



# **Estabelecimento de uma metodologia de determinação do tempo de vida útil de alguns óleos vegetais**

**Lúcia Rodrigues Henriques**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar**

Orientador: Paula Isabel Barradas Arês

Co-orientador: Ana Isabel Tonim Cardoso

Co-orientador: Maria Luísa Louro Martins

**Jurí:**

Presidente: - Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: - Doutor José Manuel do Nascimento Baptista de Gouveia, Professor Auxiliar Aposentado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

- Doutora Maria Luísa Louro Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

- Licenciada Paula Isabel Barradas Arês, na qualidade de especialista.

Lisboa, 2011

## Agradecimentos

Este espaço é dedicado àqueles que deram a sua contribuição para que esta dissertação fosse realizada e que me apoiaram e ajudaram a atravessar esta fase tão importante da minha vida profissional e pessoal. A todos eles deixo aqui o meu agradecimento sincero.

Em primeiro lugar agradeço à Sovena por ter facultado a possibilidade de concretizar este estudo.

Agradeço à Eng. Paula Arês pelas notas dominantes da sua orientação e pelas recomendações e conhecimentos transmitidos sempre que solicitados.

Agradeço também à Eng. Isabel Cardoso a disponibilidade, o acompanhamento e todas as recomendações facultadas durante a realização deste estudo. Agradeço o tempo que generosamente dedicou a este trabalho, às críticas atempadas e construtivas que contribuíram para a melhoria deste trabalho.

Agradeço à Prof. Luísa Loura e ao Prof. Miguel Mourato pela orientação, acompanhamento, disponibilidade e pelas críticas e sugestões apontadas que contribuíram para a execução e melhoria deste trabalho.

Um sentido agradecimento à Ana Figueira pelo apoio e pela compreensão. A disponibilidade que dedicou foi fundamental para a realização deste trabalho. Agradeço também à Filipa Nabeiro pela disponibilidade, pelo interesse que demonstrou por este trabalho e pela discussão de ideias e sugestões facultadas. Agradeço à Cátia Ribeiro e ao Fábio Travessa pela amizade, dedicação e pelo tempo disponibilizado.

Agradeço ao João Fernandes pelo apoio, amizade e conselhos concedidos.

Agradeço o acolhimento de todos os que tornaram, directa ou indirectamente, possível a execução deste estudo, nomeadamente, os colaboradores da Sovena com quem estabeleci contacto no decorrer deste estudo.

Por último, agradeço a todos os meus amigos e familiares pelo apoio incondicional.

## Resumo

Este trabalho teve como objectivo o estabelecimento de uma metodologia de previsão do tempo de vida útil de diferentes óleos vegetais refinados.

Foi avaliada a evolução oxidativa de três óleos (óleo de girassol, óleo de soja e óleo de amendoim) durante 18 meses à temperatura ambiente. Nos ensaios seguintes, foi simulado um processo rápido de degradação dos óleos em estudo (girassol e girassol<sub>spray</sub>), pela realização de ensaios em estufa a 42, 50 e 55 °C e em *Rancimat*. A evolução oxidativa foi avaliada pela determinação do índice de peróxidos, acidez e absorvâncias. Foram também avaliadas as características organolépticas de algumas amostras em relação ao aroma e sabor.

Verificou-se que a estabilidade oxidativa de cada óleo pode ser descrita por modelos que permitem uma estimativa do tempo de vida útil, a partir da determinação do índice de peróxidos, da acidez e das absorvâncias, da avaliação organoléptica e dos tempos de estabilidade obtidos no *Rancimat*.

Concluiu-se que os estudos efectuados à temperatura ambiente são mais adequados para a previsão do tempo de vida útil dos óleos, uma vez que, nos ensaios em que é provocada uma degradação mais rápida dos óleos há alteração dos mecanismos de oxidação influenciando os resultados dessa previsão.

**Palavras-chave:** óleos vegetais; tempo de vida útil; estabilidade oxidativa; índice de peróxidos; acidez; absorvâncias.

## Abstract

The main goal of the present work was the establishment of a methodology to predict the shelf-life of different vegetable oils.

The oxidative evolution of three vegetable oils (sunflower oil, soybean oil and peanut oil) at room temperature was evaluated during 18 months. A fast degradation process of two oils (sunflower oil and sunflower oil<sub>spray</sub>) was simulated by heating at temperatures of 42, 50 and 55 °C, in an oven, and by performing Rancimat tests as well. The oxidative evolution was followed by measuring the peroxide value, acidity and absorbances. The organoleptic characteristics (flavor and aroma) were also evaluated in several samples.

It was found that the oxidative stability of each oil can be described by models that allows a shelf-life prediction, from the determination of the peroxide value, absorbances and acidity values, organoleptic evaluation and stability times obtained in Rancimat tests.

It was concluded that the experiments carried out at room temperature are more suitable for predicting the shelf-life of oils, since, in trials at higher temperature, the faster degradation of oils influence the oxidation mechanisms and consequently the results of this prediction.

**Key words:** vegetable oils; shelf life; oxidative stability; peroxide values; acidity; absorbances.

## Extended abstract

The main goal of the present work was the establishment of a shelf-life prediction methodology of several vegetable oils.

In the first test the oxidative evolution of three vegetable oils packed in a protective atmosphere with an inert gas (sunflower oil, soybean oil and peanut oil) was evaluated at room temperature during 18 months.

By regularly measuring analytic parameters such as the peroxide, acidity values and absorbances at wavelengths 230 and 270 nm, oxidative evolution was evaluated. Results obtained during 18 months showed a polynomial distribution of the data with coefficients of determination higher than 0.90. Organoleptic features of several samples were evaluated (aroma and flavor).

At room temperature it was observed that the sunflower oil had a higher oxidative stability, followed by soybean and peanut oils.

In order to study the variability between samples, the coefficients of correlation of Pearson for the peroxide values were determined. The majority of results showed a lower variability in the sunflower oil, which means a lower variability in every sample over the 18 months when compared to the soybean oil.

In the subsequent experiments an acceleration of the degradation process of the oils (sunflower oil and sunflower oil<sub>spray</sub>) was simulated by heating at temperatures of 42, 50 and 55 °C (test 2) in an oven and in Rancimat (test 3). The oxidative evolution was evaluated by the determination of several analytical parameters (peroxide values, acidity values and absorbances at 230, 232, 268 and 270 nm). Organoleptic characteristics of several samples were also evaluated (aroma and flavor).

In test 2, two oils with the same composition but different packaging systems were evaluated. Sunflower oil<sub>spray</sub>, in contrast with sunflower oil did not present a protected atmosphere. Both packages were made of PET, however, sunflower oil had a 1 L capacity and a two-piece capsule, whereas sunflower oil<sub>spray</sub> had 250 mL capacity and a spray packaging.

Several samples of these oils were subjected to an oxidation test in an oven at temperatures of 42, 50 and 55 °C. Periodically, two samples were collected for analysis. The samples were always heated in their original, sealed packages. At the temperature of 42 °C, the trend observed for sunflower oil over a period of 84 days suggested a stability time of 63 days, while in the sunflower oil<sub>spray</sub> the trend suggested a lower stability time of 49 days since, after that, a sharp increase of the primary and secondary compounds of oxidation and acidity were detected.

However, at the temperatures of 50 and 55 °C, sunflower oil<sub>spray</sub> showed a higher stability. At 55 °C, results revealed a stability time of 22 days in the sunflower oil and 26 days in the sunflower oil<sub>spray</sub>, and at 50 °C, 42 days in the sunflower oil and 54 days in the sunflower oil<sub>spray</sub>.

In test 3, several samples of sunflower oil and sunflower oil<sub>spray</sub> were submitted to a faster oxidation time test in Rancimat. Several temperatures were tested (70, 80, 90, 100, 110 e 120 °C) with a 3 g sample and an air flow of 20 g L<sup>-1</sup>. A logarithmic model was applied to the results, expressed as the average stability time. Results showed that both oils had a stability time identical at room temperature (approximately 4 months). However, taking into account that each temperature test is an isolated assay, sunflower oil presented always a higher stability time than sunflower oil<sub>spray</sub>. Comparing these results with the results of test 1, we can conclude that the prediction of stability was underestimated.

As in test 1 the study of sunflower oil<sub>spray</sub> was not done, it was necessary to extrapolate the results obtained in the 3 tests in order to predict the stability time at room temperature, based in the differences observed in both oils. This way, it was possible to determine the average, median and standard deviation of the differences observed in the logarithms of the stability times between both oils and to predict the stability time at room temperature of sunflower oil<sub>spray</sub> knowing that sunflower oil has a shelf-life of 18 months. This way, sunflower oil<sub>spray</sub> showed a stability time of 14 to 16 months.

It was found that the oxidative stability of each oil can be described by models that allow an estimate of the shelf-life, from the determination of the peroxide value, absorbances and acidity values, organoleptic evaluation and stability times obtained in Rancimat tests.

It was concluded that the studies carried out at room temperature are more suitable for predicting the shelf-life of oils, since, at high temperature trials the oxidation mechanisms changed, influencing the results of this prediction.

## Índice geral

AGRADECIMENTOS .....	II
RESUMO .....	III
ABSTRACT .....	IV
EXTENDED ABSTRACT .....	V
ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
ÍNDICE DE TABELAS .....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS .....	XIV
I. ENQUADRAMENTO TEÓRICO .....	1
1.1. Introdução .....	1
1.2. Objectivos .....	3
1.3. Óleos vegetais .....	4
1.3.1. <i>Composição dos óleos vegetais</i> .....	4
1.3.2. <i>Processamento industrial de óleos vegetais</i> .....	6
1.3.2.1. Preparação da matéria-prima e extracção de óleos vegetais .....	6
1.3.2.2. Refinação de óleos vegetais .....	8
1.3.3. <i>Sistema de embalagem e embalamento</i> .....	10
1.3.4. <i>Degradação dos óleos vegetais</i> .....	11
1.3.4.1. Hidrólise .....	11
1.3.4.2. Oxidação não-enzimática .....	12
1.3.4.3. Oxidação enzimática .....	13
1.3.5. <i>Antioxidantes</i> .....	14
1.3.5.1. Papel dos antioxidantes nos óleos vegetais .....	14
1.3.5.2. Classificação dos antioxidantes .....	14
1.3.6. <i>Estabilidade oxidativa</i> .....	16
1.3.6.1. Testes de oxidação acelerada .....	17
1.3.6.2. Principais limitações dos testes de oxidação acelerada .....	18
1.3.7. Consumo <i>per capita</i> dos óleos vegetais .....	19
II. PARTE EXPERIMENTAL .....	20
<b>II. 1. Ensaio 1 – Estudo da estabilidade oxidativa à temperatura ambiente</b> .....	<b>21</b>
1.1. Objectivos .....	21
1.2. Metodologia experimental .....	21
1.2.1. Resultados .....	21

1.2.2. Óleo de girassol.....	21
1.2.3. Óleo de soja.....	28
1.2.4. Óleo de amendoim.....	38
1.3. Conclusões intercalares.....	44
<b>II. 2. Ensaio 2 – Estudo do envelhecimento acelerado em estufa nos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub></b>	<b>47</b>
2.1. Objectivos.....	47
2.2. Definição/optimização das condições de ensaio.....	47
2.3. Experiência 1.....	47
2.4. Experiência 2.....	48
2.5. Experiência 3.....	48
2.6. Experiência 4.....	50
2.7. Estudo da evolução oxidativa nos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 42 °C.....	50
2.7.1. Metodologia experimental.....	50
2.7.2. Resultados.....	51
2.8. Estudo da evolução oxidativa nos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 55 °C.....	55
2.8.1. Metodologia experimental.....	55
2.8.2. Resultados.....	55
2.9. Estudo da evolução oxidativa nos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 50 °C.....	59
2.9.1. Metodologia experimental.....	59
2.9.2. Resultados.....	59
2.10. Conclusões intercalares.....	62
<b>II. 3. Ensaio 3 – Estudo da estabilidade oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> através do Rancimat.....</b>	<b>65</b>
3.1. Objectivos.....	65
3.2. Metodologia experimental.....	65
3.3. Resultados.....	65
3.4. Conclusões intercalares.....	67
<b>III. DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....</b>	<b>69</b>
<b>IV. CONCLUSÕES.....</b>	<b>73</b>
<b>V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO I – Metodologias de análise.....</b>	<b>81</b>
<b>ANEXO II – Evolução oxidativa do óleo de girassol à temperatura ambiente.....</b>	<b>84</b>



<b>ANEXO III</b> – Evolução oxidativa do óleo de soja à temperatura ambiente.....	86
<b>ANEXO IV</b> – Evolução oxidativa do óleo de amendoim à temperatura ambiente.....	90
<b>ANEXO V</b> – Evolução oxidativa do óleo de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 42 °C .....	93
<b>ANEXO VI</b> – Evolução oxidativa dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 55 °C .....	98
<b>ANEXO VII</b> – Evolução oxidativa dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 50 °C .....	102
<b>ANEXO VIII</b> – Estudo da estabilidade oxidativa dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> através do <i>Rancimat</i> .....	106

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> – Fluxograma genérico da preparação da matéria-prima e da extracção de óleos vegetais	7
<b>Figura 2</b> – Fluxograma genérico da refinação de óleos vegetais .....	8
<b>Figura 3</b> – Esquema ilustrativo do processo de fabrico de garrafas PET .....	10
<b>Figura 4</b> – Representação da hidrólise completa de um triacilglicerol .....	11
<b>Figura 5</b> – Representação do mecanismo de foto-oxidação .....	12
<b>Figura 6</b> – Esquema geral do mecanismo de auto-oxidação lipídica .....	13
<b>Figura 7</b> – Ordem decrescente de estabilidade oxidativa das diversas configurações .....	14
<b>Figura 8</b> – Mecanismo de acção dos antioxidantes primários .....	15
<b>Figura 9</b> – Evolução do processo oxidativo. A – Período de indução (iniciação); B – Propagação ....	17
<b>Figura 10</b> – Evolução média do índice de peróxidos de 12 lotes de óleo de girassol e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise .....	22
<b>Figura 11</b> – Evolução média do índice de peróxidos de 15 lotes de óleo de soja e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise .....	29
<b>Figura 12</b> – Evolução dos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 230 e 270 nm e do respectivo erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado, para o óleo de soja .....	35
<b>Figura 13</b> – Evolução média da acidez de 15 lotes de óleo de soja e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise .....	37
<b>Figura 14</b> – Evolução média do índice de peróxidos de 10 lotes de óleo de amendoim e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise .....	39
<b>Figura 15</b> – Evolução média da acidez de 10 lotes de óleo de amendoim e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise .....	43
<b>Figura 16</b> – Previsão do tempo de permanência na estufa à temperatura de 55 °C do óleo de girassol com base na evolução do índice de peróxidos obtida a 42 °C .....	49
<b>Figura 17</b> – Evolução média do índice de peróxidos ao longo de 21 dias de permanência na estufa	49
<b>Figura 18</b> – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo de girassol .....	51
<b>Figura 19</b> – Evolução média da acidez do óleo de girassol .....	52
<b>Figura 20</b> – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo girassol <sub>spray</sub> .....	53
<b>Figura 21</b> – Evolução média da acidez do óleo girassol <sub>spray</sub> .....	54
<b>Figura 22</b> – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo de girassol .....	56
<b>Figura 23</b> – Evolução média da acidez do óleo de girassol .....	57

<b>Figura 24</b> – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo girassol <sub>spray</sub> .....	58
<b>Figura 25</b> – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo de girassol .....	59
<b>Figura 26</b> – Evolução média da acidez do óleo de girassol .....	60
<b>Figura 27</b> – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo girassol <sub>spray</sub> .....	61
<b>Figura 28</b> – Evolução média da acidez do óleo girassol <sub>spray</sub> .....	62
<b>Figura 29</b> – Evolução do tempo de estabilidade oxidativa dos óleos de girassol(A) e girassol <sub>spray</sub> (B) .....	66
<b>Figura 30</b> – Evolução do logaritmo do tempo de estabilidade médio obtido a cada temperatura de ensaio, para os óleos de girassol (A) e girassol <sub>spray</sub> (B) .....	67
<b>Figura 31</b> – Evolução do tempo de estabilidade médio obtido na gama de temperaturas usadas nos 3 ensaios, para os óleos de girassol (A) e girassol <sub>spray</sub> (B).....	70

## Índice de tabelas

<b>Tabela I</b> – Composição em ácidos gordos de três óleos vegetais .....	4
<b>Tabela II</b> – Composição em esteróis de três óleos vegetais brutos .....	5
<b>Tabela III</b> – Composição de três óleos vegetais brutos relativamente aos diversos níveis de tocoferóis .....	6
<b>Tabela IV</b> – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos para cada mês de análise do óleo de girassol .....	22
<b>Tabela V</b> – Previsão média mensal do índice de peróxidos representativo de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio .....	23
<b>Tabela VI</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes ( $\pm 1\sigma$ ), do óleo de girassol.....	23
<b>Tabela VII</b> – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos após a eliminação de <i>outliers</i> identificados .....	24
<b>Tabela VIII</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a eliminação de <i>outliers</i> identificados e índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 1\sigma$ ) .....	25
<b>Tabela IX</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a eliminação de <i>outliers</i> identificados e índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 2\sigma$ ) .....	26
<b>Tabela X</b> – Comparação dos coeficientes de determinação de cada lote de óleo de girassol .....	27
<b>Tabela XI</b> – Evolução da moda das classificações do aroma e do sabor do óleo de girassol.....	28
<b>Tabela XII</b> – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos para cada mês de análise do óleo de soja .....	28
<b>Tabela XIII</b> – Previsão média mensal do índice de peróxidos representativo de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio .....	30
<b>Tabela XIV</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes ( $\pm 1\sigma$ ), do óleo de soja .....	30
<b>Tabela XV</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a exclusão de índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 1\sigma$ ) .....	31
<b>Tabela XVI</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a exclusão de índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 2\sigma$ ) .....	32
<b>Tabela XVII</b> – Comparação dos coeficientes de determinação de cada lote de óleo de soja .....	33
<b>Tabela XVIII</b> – Determinação da média e do desvio-padrão dos coeficientes de extinção (K) nos 230 e 270 nm para cada mês de análise do óleo de soja.....	34
<b>Tabela XIX</b> – Previsão média mensal dos compostos primários da oxidação de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio .....	35

<b>Tabela XX</b> – Determinação da média e do desvio-padrão da acidez para cada mês de análise do óleo de soja .....	36
<b>Tabela XXI</b> – Evolução da moda das classificações do aroma e do sabor do óleo de soja .....	37
<b>Tabela XXII</b> – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos para cada mês de análise do óleo de amendoim .....	38
<b>Tabela XXIII</b> – Previsão média mensal do índice de peróxidos representativo de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio .....	40
<b>Tabela XXIV</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes ( $\pm 1\sigma$ ), do óleo de amendoim .....	4.
<b>Tabela XXV</b> – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a exclusão de índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 1\sigma$ ) .....	41
<b>Tabela XXVI</b> – Comparação dos coeficientes de determinação de cada lote de óleo de amendoim	42
<b>Tabela XXVII</b> – Determinação da média e do desvio-padrão da acidez para cada mês de análise do óleo de amendoim .....	43
<b>Tabela XXVIII</b> – Evolução da moda das classificações do aroma e do sabor do óleo de amendoim.	44
<b>Tabela XXIX</b> – Resumo dos diversos parâmetros avaliados em cada óleo ao longo dos 18 meses ..	45
<b>Tabela XXX</b> – Previsão média do índice de peróxidos após 21 dias na estufa à temperatura de 55 °C, para o óleo de girassol .....	56
<b>Tabela XXXI</b> – Tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> às temperaturas de 42, 50 e 55 °C .....	63
<b>Tabela XXXII</b> – Avaliação organoléptica dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> às temperaturas de 42, 50 e 55 °C.....	63
<b>Tabela XXXIII</b> – Previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C .....	66
<b>Tabela XXXIV</b> – Previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C .....	67
<b>Tabela XXXV</b> – Previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C .....	70
<b>Tabela XXXVI</b> – Tempos de estabilidade dos óleos de girassol e girassol <sub>spray</sub> observados nos 3 ensaios .....	71
<b>Tabela XXXVII</b> – Previsão do tempo de estabilidade do óleo girassol <sub>spray</sub> à temperatura ambiente	72

## Lista de abreviaturas

A – aroma  
 APX – ascorbato-peroxidase  
 BHA – butil-hidroxianisol  
 BHT – butil-hidroxitolueno  
 CAT – catalase  
 EDTA – ácido etilenodiamio tetra-acético  
 GP – galato de propilo  
 GPX – glutationa-peroxidase  
 IP – índice de peróxidos  
 ND – não detectado  
 PET – politereftalato de etileno  
 PP – polipropileno  
 S – sabor  
 SOD – superóxido-dismutase  
 TBHQ – terc-butil-hidroquinona  
 TE – tempo de estabilidade

## **I. Enquadramento Teórico**

### **1.1. Introdução**

Actualmente, verifica-se uma preocupação crescente com a dieta alimentar. O consumidor, cada vez mais informado e exigente, procura obter produtos que satisfaçam as suas necessidades, apostando em alimentos mais saudáveis, preferencialmente sem aditivos incorporados e com uma qualidade sensorial elevada até ao limite da sua validade.

Um óleo vegetal é uma gordura vegetal líquida à temperatura de 20 °C. Entende-se por óleo alimentar, a mistura de dois ou mais óleos, refinados isoladamente ou em conjunto, à excepção do azeite. A mistura de diferentes tipos de óleos permite obter um produto final com características particulares, resultante da combinação das características específicas de cada um dos óleos incorporados na mistura. Este factor determina a gama alargada de óleos disponibilizados no mercado, proporcionando ao consumidor a possibilidade de optar pelo óleo que melhor se adequa às suas necessidades e preferências (DECRETO-LEI Nº 106/2005).

Os óleos vegetais destinados à alimentação humana devem ser provenientes de frutos ou sementes que permitam facultar um produto bromatologicamente aceitável, apresentar-se em conveniente estado de conservação, isentos de substâncias ou matérias estranhas à sua normal composição, bem como, de microrganismos patogénicos ou de substâncias destes derivados em níveis susceptíveis de prejudicar a saúde do consumidor (DECRETO-LEI Nº 106/2005).

Segundo o DECRETO-LEI Nº 106/2005, para a obtenção e tratamento dos óleos vegetais a partir de sementes ou frutos oleaginosos são admitidas apenas as seguintes operações: extracção por processos físicos, mediante acção mecânica ou dissolução com solventes; depuração, mediante operações de decantação, filtração, centrifugação e desgomagem; fraccionamento por operações de arrefecimento ou aquecimento a determinadas temperaturas e/ou por cristalização fraccionada em dissolvente apropriado e refinação, mediante operações de neutralização dos ácidos gordos livres com soluções alcalinas, ou de separação desses ácidos por destilação em ambiente rarefeito, descoloração com adsorventes inócuos ou membranas e desodorização pela passagem do vapor de água ou azoto em ambiente rarefeito.

Os óleos vegetais, para além de reforçarem o sabor e a palatibilidade dos alimentos, contribuem para uma nutrição adequada, uma vez que, apresentam na sua composição nutrientes essenciais (ex.: ácidos gordos essenciais e vitamina E) que o organismo não tem capacidade de produzir e que são fundamentais em determinados processos metabólicos, fisiológicos e de manutenção da integridade

estrutural e funcional de todas as membranas celulares. Por outro lado, apresentam também fitoesteróis (com reconhecida acção benéfica na redução do colesterol) e antioxidantes naturais (ex.: tocoferóis) (IQBAL *et al*, 2005; MANN *et al*, 2002; PARDAUIL *et al*, 2011).

Os óleos vegetais são produtos que apresentam uma evolução degradativa como consequência das diversas reacções químicas que neles ocorrem. Neste sentido, é imprescindível o estabelecimento de uma data de durabilidade mínima.

A data da durabilidade mínima é a data até à qual se considera que os géneros alimentícios conservam as suas propriedades específicas nas condições de conservação apropriadas. A data de durabilidade mínima, a figurar na rotulagem, deve ser indicada de forma clara, de acordo com os critérios descritos na legislação vigente. O DECRETO-LEI Nº 560/1999 refere, que um género alimentício que apresente uma durabilidade entre 3 a 18 meses, como os óleos vegetais, é suficiente a indicação do mês e do ano na respectiva embalagem (DECRETO-LEI Nº 560/1999).

O estado oxidativo é um importante indicador na determinação da estabilidade oxidativa dos óleos vegetais e consequentemente, na determinação da sua data de durabilidade mínima. Devido à complexidade das reacções químicas envolvidas no processo de oxidação e ao amplo conjunto e compostos produzidos torna-se imprescindível conjugar diversas técnicas analíticas (COMANDINI *et al*, 2009).

No entanto, a oxidação lipídica é um processo que ocorre de forma relativamente lenta à temperatura ambiente. Com o intuito de estabelecer a data de durabilidade mínima dos óleos recorreu-se à aceleração do processo oxidativo mediante testes de envelhecimento acelerado que permitem avaliar a estabilidade oxidativa dos óleos num período de tempo consideravelmente menor e aceitável na rotina de qualquer indústria. No entanto, na previsão da data de durabilidade mínima de um óleo vegetal, é importante considerar eventuais erros que possam advir durante a cadeia de distribuição e durante o seu manuseamento por parte do consumidor, razão pela qual, muitas empresas optam por uma margem extra de segurança, uma vez que, não é viável cobrir todas as eventualidades (COMANDINI *et al*, 2009).



## **1.2. Objectivos**

O presente trabalho teve como objectivo o estabelecimento de um modelo mais rápido de previsão do tempo de vida útil de alguns óleos vegetais. Neste sentido, procurou-se estudar o tempo de vida útil de alguns óleos vegetais em condições de envelhecimento à temperatura ambiente e simular condições de alteração e monitorizar a evolução oxidativa de vários óleos, mediante condições de envelhecimento forçado, através da determinação periódica de diversos parâmetros analíticos relevantes da sua estabilidade.

Para desenvolver este modelo foi necessário estabelecer a correlação entre os resultados das diversas determinações efectuadas em condições de envelhecimento forçado e o tempo de vida útil dos mesmos.

### 1.3. Óleos vegetais

#### 1.3.1. Composição dos óleos vegetais

Os óleos vegetais são constituídos essencialmente por acilgliceróis (triacilgliceróis, diacilgliceróis e monoacilgliceróis) e ácidos gordos livres (saturados, monoinsaturados e polinsaturados), os quais representam os componentes maioritários de um óleo (97 – 99 %). Os componentes menores (1 – 3 %) presentes são fosfolípidos, ceras, hidrocarbonetos, esteróis, alcoóis superiores, pigmentos, vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), entre outros. Contudo, a composição dos óleos vegetais difere com o tipo de semente, a cultivar, as condições climáticas a que foi sujeita durante o processo produtivo, o tipo de solo e as condições de armazenamento e transporte (ALLEN *et al*, 1994; CHAKRABARTY, 2003; GUNSTONE, 2004).

O presente estudo incidiu em três tipos de óleos vegetais refinados, nomeadamente, um óleo de girassol, um óleo de soja e um óleo de amendoim. A composição típica dos ácidos gordos dos três óleos vegetais em estudo encontra-se apresentada na tabela seguinte (tabela I).

**Tabela I** – Composição em ácidos gordos de três óleos vegetais.

**Fonte:** CODEX STAN 210-1999, 2009.

Ácidos gordos		Limites máximos (%)		
		Óleo de girassol	Óleo de soja	Óleo de Amendoim
C6:0	ácido caprónico	ND	ND	ND
C8:0	ácido caprílico	ND	ND	ND
C10:0	ácido cáprico	ND	ND	ND
C12:0	ácido laurico	ND – 0,1	ND – 0,1	ND – 0,1
C14:0	ácido mirístico	ND – 0,2	ND – 0,2	ND – 0,1
C16:0	ácido palmítico	5,0 – 7,6	8,0 – 13,5	8,0 – 14,0
C16:1	ácido palmitoleico	ND – 0,3	ND – 0,2	ND – 0,2
C17:0	ácido margárico	ND – 0,2	ND – 0,1	ND – 0,1
C17:1	ácido margaroleico	ND – 0,1	ND – 0,1	ND – 0,1
C18:0	ácido esteárico	2,7 – 6,5	2,0 – 5,4	1,0 – 4,5
C18:1	ácido oleico	14,0 – 39,4	17,0 – 30,0	35,0 – 69,0
C18:2	ácido linoleico	48,3 – 74,0	48,0 – 59,0	12,0 – 43,0
C18:3	ácido linolénico	ND – 0,3	4,5 – 11,0	ND – 0,3
C20:0	ácido araquídico	0,1 – 0,5	0,1 – 0,6	1,0 – 2,0
C20:1	ácido gadoleico	ND – 0,3	ND – 0,5	0,7 – 1,7
C20:2	ácido eicosadienóico	ND	ND – 0,1	ND
C22:0	ácido beénico	0,3 – 1,5	ND – 0,7	1,5 – 4,5
C22:1	ácido erúxico	ND – 0,3	ND – 0,3	ND – 0,3
C22:2	ácido docosadienóico	ND – 0,3	ND	ND
C24:0	ácido lignocérico	ND – 0,5	ND – 0,5	0,5 – 2,5
C24:1	ácido lignoceroleico	ND	ND	ND – 0,3

ND – não detectado

O óleo de girassol refinado é o produto obtido da refinação de óleo extraído da semente de girassol – *Helianthus annuus L.* (DECRETO-LEI Nº 106/2005). Este óleo caracteriza-se pela sua riqueza em ácido  $\gamma$ -linoleico e por apresentar um elevado grau de insaturação, factores que condicionam a sua susceptibilidade aos fenómenos oxidativos (CRAPISTE *et al*, 1999; FOX *et al*, 2006). Comparativamente ao óleo de soja e de amendoim, o óleo de girassol apresenta um teor de ácidos gordos saturados inferior e de polinsaturados substancialmente superior.

O óleo de soja refinado é o produto obtido da refinação de óleo extraído da semente de soja – *Glycine max L. Merril.* (DECRETO-LEI Nº 106/2005). Este óleo distingue-se pela percentagem de ácido linolénico. Relativamente ao nível de insaturação, genericamente, o óleo de soja surge com um teor de ácidos gordos polinsaturados e monoinsaturados inferior e um teor mais elevado de ácidos gordos saturados, comparando com o óleo de girassol. Neste sentido, é um óleo relativamente menos susceptível à oxidação.

O óleo de amendoim refinado é o produto obtido da refinação de óleo extraído da semente de amendoim – *Arachis hypogaea L.* (DECRETO-LEI Nº 106/2005). Este óleo caracteriza-se pela sua riqueza em ácido oleico. Relativamente ao nível de insaturação, genericamente, o óleo de amendoim surge com um teor de ácidos gordos polinsaturados inferior e um teor mais elevado de ácidos gordos monoinsaturados e saturados, comparando com os óleos de girassol e de soja. Neste sentido, é um óleo ainda mais resistente à oxidação.

Segundo o DECRETO-LEI Nº 106/2005, óleos brutos são produtos obtidos por extracção mecânica ou por dissolução com solvente. Relativamente à composição em esteróis, os óleos vegetais referidos, em bruto, apresentam a constituição descrita na tabela II.

**Tabela II** – Composição em esteróis de três óleos vegetais brutos.

Fonte: CODEX STAN 210-1999, 2009.

Esteróis	Limites máximos (%)		
	Óleo de girassol	Óleo de soja	Óleo de amendoim
Colesterol	ND – 0,7	0,2 – 1,4	ND – 3,8
Brassicasterol	ND – 0,2	ND – 0,3	ND – 0,2
Campesterol	6,5 – 13,0	15,8 – 24,2	12,0 – 19,8
Stigmasterol	6,0 – 13,0	14,9 – 19,1	5,4 – 13,2
$\beta$ -sitosterol	50 – 70	47,0 – 60,0	47,4 – 60,0
$\delta$ -5-avenasterol	ND – 6,9	1,5 – 3,7	5,0 – 18,8
$\delta$ -7-stigmasterol	6,5 – 24,0	1,4 – 5,2	ND – 5,1
$\delta$ -7-avenasterol	3,0 – 7,5	1,0 – 4,6	ND – 5,5
Outros	ND – 5,3	ND – 1,8	ND – 1,4
Limites máximos (mg kg <sup>-1</sup> )			
Total de esteróis	2400 – 5000	1800 – 4500	900 – 2900

ND – não detectado

O óleo de girassol bruto apresenta um total de esteróis superior, seguindo-se o óleo de soja, sendo a forma predominante, na generalidade dos óleos vegetais em estudo, a  $\beta$  -sitosterol.

A tabela seguinte (tabela III) apresenta a composição relativamente aos diversos níveis de tocoferóis de três óleos vegetais em bruto.

**Tabela III** – Composição de três óleos vegetais brutos relativamente aos diversos níveis de tocoferóis.

**Fonte:** CODEX STAN 210-1999, 2009.

Tocoferóis	Limites máximos (mg kg <sup>-1</sup> )		
	Óleo de girassol	Óleo de soja	Óleo de amendoim
$\alpha$ -tocoferol	403 – 935	9 – 352	49 – 373
$\beta$ -tocoferol	ND – 45	ND – 36	ND – 41
$\gamma$ -tocoferol	ND – 34	89 – 2307	88 – 389
$\delta$ -tocoferol	ND – 7,0	154 – 932	ND – 22
$\alpha$ -tocotrienol	ND	ND – 69	ND
$\gamma$ -tocotrienol	ND	ND – 103	ND
$\delta$ -tocotrienol	ND	ND	ND
Limites máximos (mg kg <sup>-1</sup> )			
Total de tocoferóis	440 - 1520	600 – 3370	170 – 1300

ND – não detectado

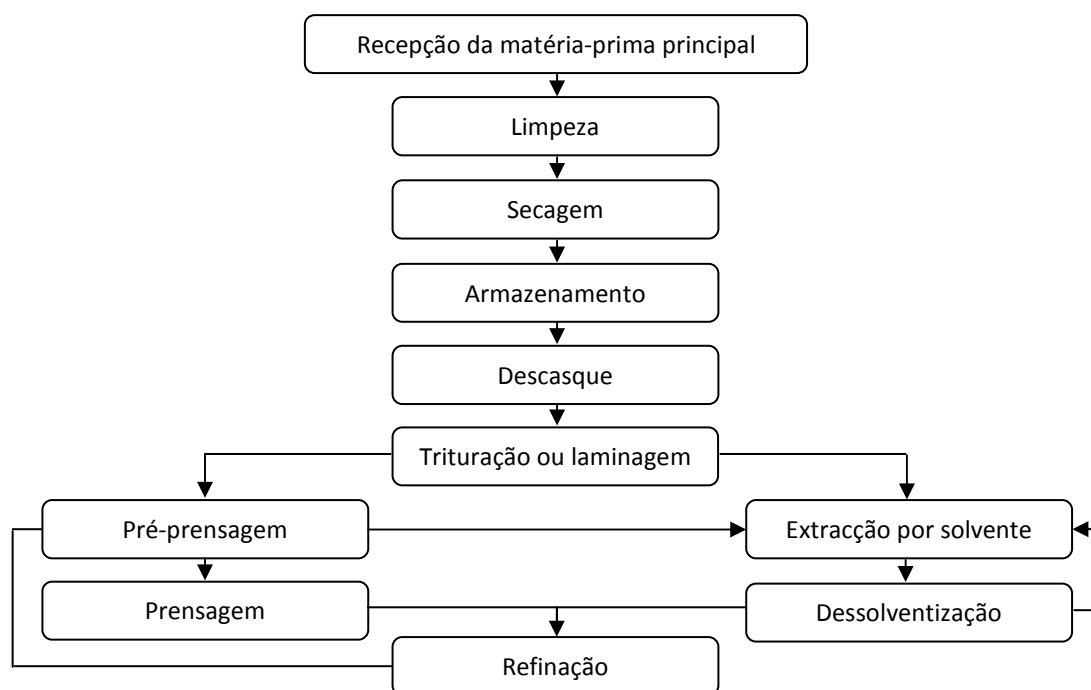
De entre os vários isómeros de tocoferóis presentes no óleo de girassol bruto, a forma predominante é a  $\alpha$ -tocoferol, ao contrário da generalidade dos óleos vegetais onde se destaca a forma  $\gamma$ -tocoferol, nomeadamente no óleo de soja e de amendoim. Apesar do tocoferol maioritariamente presente ( $\alpha$ -tocoferol) oferecer menor poder antioxidante, o óleo de girassol refinado exibe maior actividade em vitamina E. Por outro lado, o óleo de soja e de amendoim refinados exibem um poder antioxidante superior uma vez que a forma  $\gamma$  -tocoferol apresenta maior poder antioxidante.

### 1.3.2. Processamento industrial de óleos vegetais

Os óleos vegetais são obtidos a partir de diversas sementes, com características (dimensão, teor em óleo, teor de humidade, etc.) e origens distintas. Neste sentido, mediante o tipo de matéria-prima, adaptam-se as condições do processo, quer as etapas que envolvem a preparação da matéria-prima, a extracção, como a refinação.

#### 1.3.2.1. Preparação da matéria-prima e extracção de óleos vegetais

A preparação da matéria-prima e posterior extracção de óleos vegetais envolve uma sequência de etapas que se encontram representadas na figura seguinte (figura 1).



**Figura 1** – Fluxograma genérico da preparação da matéria-prima e da extracção de óleos vegetais.

**Fonte:** BOCKISCH, 1998; GUNSTONE, 2004.

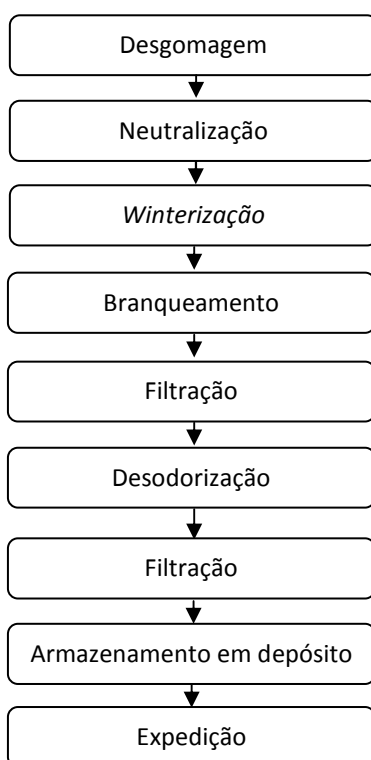
Após a colheita, as sementes em geral são submetidas a diversas operações, nomeadamente, uma limpeza, uma secagem, um armazenamento, um descasque e uma trituração ou laminagem. Consoante o tipo de semente a preparar, poderão ainda efectuar-se eventuais etapas específicas, com o intuito de uniformizar as características das sementes mediante o controlo de temperatura e humidade. Esta preparação permite potenciar o rendimento e a eficácia da etapa seguinte, a extracção de óleo bruto (BOCKISCH, 1998; GUNSTONE, 2004).

O método de extracção está condicionado pelo teor em óleo que caracteriza cada semente. Sementes/grãos pobres em óleo (< 20 – 25 %), como a soja e o algodão, sofrem uma extracção directa com solvente (extracção química). Por outro lado, as sementes ricas em óleo (> 25 %), como o girassol e o milho, podem seguir um de dois métodos de extracção: uma extracção mecânica ou física (pré-prensagem seguida de uma prensagem) ou uma extracção mecânica (pré-prensagem) seguida de uma extracção por solvente orgânico, habitualmente o *n*-hexano (método mais vulgar) (BOCKISCH, 1998; GUNSTONE, 2004).

Em relação aos produtos finais, na extracção física obtêm-se o óleo bruto e o bagaço e na extracção química a miscela (mistura de óleo dissolvido em solvente) e o bagaço extractado. Uma extracção química exige, por conseguinte, uma dessolventização que garanta a separação do óleo bruto do solvente utilizado na extracção, por meio de uma destilação (BOCKISCH, 1998; GUNSTONE, 2004).

### 1.3.2.2. Refinação de óleos vegetais

O óleo bruto obtido é posteriormente refinado com o propósito de remover os componentes e substâncias indesejáveis mantendo, no entanto, a sua estabilidade e valor nutricional. O produto final é um líquido oleoso que se caracteriza por apresentar um aspecto límpido e sem depósito à temperatura de 20 °C, um cheiro/sabor característico, praticamente inodoro/insípido, isento de aromas/sabores estranhos à temperatura de 20 °C e isento de cheiros anormais quando aquecido a 180 °C e incolor ou amarelo claro (NP 961, 2004; NP 1539, 2004). Esta operação envolve uma sequência de etapas: desgomagem, neutralização, *winterização* ou fraccionamento, descoloração ou branqueamento, filtração, desodorização e um acabamento final por filtração (figura 2).



**Figura 2** – Fluxograma genérico da refinação de óleos vegetais.

**Fonte:** BOCKISCH, 1998; DENISE, 1996; GUNSTONE, 2004.

A desgomagem consiste num tratamento com água e/ou ácido que permite remover gomas (fosfatídeos hidratáveis), proteínas, contaminantes metálicos e impurezas. Os compostos não hidratáveis necessitam de um tratamento prévio com ácido fosfórico, com o objectivo de os converter em hidratáveis. Os métodos de remoção destes compostos são variáveis (desgomagem contínua ou descontínua, desgomagem com ácido fosfórico ou cítrico ou por acção do calor). Em comum, os diversos métodos apresentam um aquecimento do óleo através de um permutador de placas, uma mistura por agitação e uma centrifugação. Os factores fulcrais que influenciam esta fase

do processo são a quantidade de água usada, a temperatura e a duração da hidratação (BOCKISCH, 1998; DENISE, 1996; GUNSTONE, 2004).

Posteriormente segue-se a neutralização que permite remover ácidos gordos livres com o auxílio do hidróxido de sódio (NaOH) com o objectivo de conferir ao óleo a acidez desejada. No final desta operação formam-se sabões ou pastas de neutralização e água. Nesta etapa removem-se, também, fosfatídeos residuais (não hidratáveis) e determinados pigmentos naturais (clorofila, carotenóides). Esta operação envolve uma repetição de adições de soda cáustica e água. Após a primeira adição de NaOH, o óleo é colocado num tanque misturador. Posteriormente, esta mistura sofre uma centrifugação removendo-se parte dos sabões, permanecendo ainda alguma acidez no óleo. A segunda adição de NaOH é efectuada com água quente seguindo-se uma mistura e uma centrifugação, obtendo-se um óleo neutro ainda com resíduos de sabão. Esta operação é finalizada com uma adição de água quente que garante uma lavagem do óleo neutro, uma mistura e uma última centrifugação, obtendo-se um óleo neutro húmido que irá sofrer uma secagem com o intuito de remover a água presente (BOCKISCH, 1998; DENISE, 1996; GUNSTONE, 2004).

A *winterização* ou fraccionamento consiste numa cristalização dirigida por arrefecimento controlado com uma posterior separação dos grupos de triacilgliceróis com características físicas semelhantes (ex.: ponto de fusão), por forma a facilitar a sua separação. Esta operação permite remover ceras, cristais de estearinas e resinas responsáveis pela turvação do óleo. A técnica de *winterização* consiste na precipitação destes compostos sob a forma de cristais (cristalização fraccionada), através de um arrefecimento lento, onde factores como a temperatura, o tempo e a agitação apresentam uma elevada importância (BOCKISCH, 1998; GUNSTONE, 2004).

Posteriormente, o óleo neutro sofre um branqueamento efectuado com adsorventes inertes (terras neutras, terras activadas ácidas, carvão activado ou silicatos) com o objectivo de remover o excesso de pigmentos naturalmente presentes, corantes em geral, resíduos de sabões, fosfatídeos, vestígios de metais e produtos de oxidação (compostos primários e secundários da oxidação). Com o intuito de separar o óleo branqueado dos adsorventes utilizados recorre-se a uma filtração mediante filtros de placa. Após a filtração, procede-se à remoção de compostos voláteis responsáveis pelos odores e sabores desagradáveis através de uma destilação (arrastamento por vapor). Na desodorização são, também, eliminados peróxidos, ácidos gordos livres e eventuais resíduos de fitofarmacêuticos presentes nas sementes (BOCKISCH, 1998; DENISE, 1996; GUNSTONE, 2004).

O processo de refinação termina com uma filtração suplementar que visa eliminar eventuais partículas que se encontrem em suspensão garantindo-se um produto final límpido, brilhante e

cristalino (GUNSTONE, 2004). Posteriormente, o produto final é armazenado em depósitos, preferencialmente de ácido inoxidável.

O óleo extreme armazenado poderá ser expedido a granel (acondicionado em camiões cisterna, entre outros) ou poderá ser loteado com outros óleos.

### 1.3.3. Sistema de embalagem e embalamento

Segundo o DECRETO-LEI Nº 106/2005, o material em contacto com os óleos vegetais deverá ser inerte, inócuo em relação ao conteúdo e garantir uma adequada conservação.

Os óleos vegetais refinados em estudo apresentam uma embalagem de politereftalato de etileno (PET). O politereftalato de etileno é um termoplástico, ou seja, a sua estrutura química não sofre alteração a temperaturas elevadas, apresentando um ponto de fusão bastante elevado. Este material pode ser reprocessado diversas vezes pelo mesmo ou outro processo de transformação. Estas embalagens são muito utilizadas na indústria alimentar devido ao seu baixo custo e características físico-mecânicas: brilho, estabilidade térmica, estabilidade à luz, propriedades de barreira aos gases, grande resistência a impactos e à ruptura, maior leveza em relação às embalagens tradicionais (ex.: embalagens de vidro), facilidade de processamento e por exigirem menores gastos energéticos para o seu fabrico e transporte (RISCH, 2009; SACCHI ET AL, 2007; SEQUEIRA, 2009; SIRACUSA *et al*, 2008).

Estas embalagens são produzidas por um processo de moldagem que envolve duas etapas: injeção e sopro. Inicialmente são produzidas as pré-formas por injeção. Depois de arrefecerem e solidificarem, as pré-formas são colocadas no molde (constituído por duas laterais e um fundo) e aquecidas. Posteriormente o molde é fechado e por sopro, as pré-formas aquecidas, expandem até à parede do molde, adquirindo a forma final pretendida (figura 3) (CHIA MING MACHINERY CO., LTD., s.d.).



**Figura 3** – Esquema ilustrativo do processo de fabrico de garrafas PET.

**Fonte:** CHIA MING MACHINERY CO., LTD., s.d.

Após o enchimento, as embalagens dos óleos vegetais refinados em estudo, que apresentam a capacidade de 1 L, são fechadas por um sistema de pressão com cápsulas bi-peça de polipropileno (PP), à excepção do óleo girassol<sub>spray</sub> que apresenta um sistema de pulverização tipo *spray* e uma embalagem com a capacidade de 250 mL. No óleo de girassol, soja e amendoim, procedeu-se à injeção de azoto com o intuito de retardar a oxidação do mesmo e, consequentemente, conferir



rigidez à embalagem. Posteriormente, as garrafas são acondicionadas em caixas de cartão canelado devidamente fechadas. Estas caixas são colocadas em paletes de madeira, envolvidas em filme estirável através de uma envolvente de paletes e armazenadas no respectivo armazém de produto final onde irão permanecer até à sua expedição.

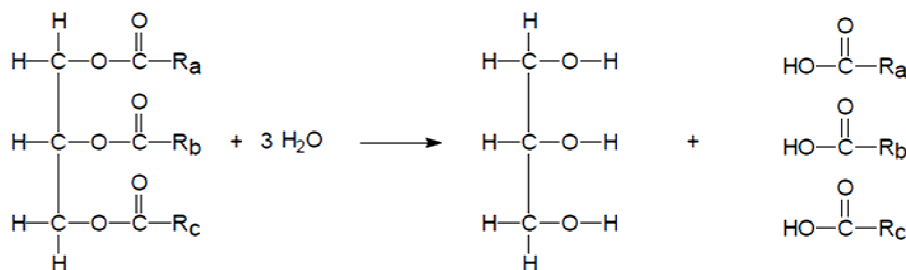
#### 1.3.4. Degradação dos óleos vegetais

Grande parte dos constituintes de um óleo vegetal refinado é susceptível à oxidação em diferentes níveis, sendo os ácidos gordos insaturados os componentes mais susceptíveis. A oxidação lipídica constitui a principal causa de deterioração dos óleos vegetais. É um fenómeno espontâneo e inevitável, capaz de reduzir o tempo de vida útil do óleo, com uma implicação directa na qualidade, devido ao desenvolvimento de compostos responsáveis pela alteração do aroma e do sabor, e na segurança do óleo, através da formação de eventuais polímeros potencialmente tóxicos. A degradação de vitaminas lipossolúveis e ácidos gordos essenciais afecta, também, a qualidade nutricional dos óleos (ANTONIASI, 2001; IQBAL *et al*, 2005; POLVILHO *et al*, 2004; SMITH *et al*, 2006; ZHANG *et al*, 2009).

A degradação dos óleos vegetais pode ocorrer mediante diversas vias, em função do meio e dos agentes catalisadores: hidrólise, oxidação não-enzimática (foto-oxidação e auto-oxidação) e oxidação enzimática (ANTONIASI, 2001; COMANDINI *et al*, 2009; FREGA *et al*, 1999).

##### 1.3.4.1. Hidrólise

As reacções hidrolíticas são catalisadas pelas lipases ou pela acção da humidade e do calor. Os triacilgliceróis, componentes maioritários de um óleo vegetal, são ésteres de glicerol com três moléculas de ácidos gordos. Estas ligações éster são susceptíveis à hidrólise. Da hidrólise dos triacilgliceróis surgem diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos gordos livres e glicerol (figura 4) (BOCKISCH, 1998; CHAKRABARTY, 2003).



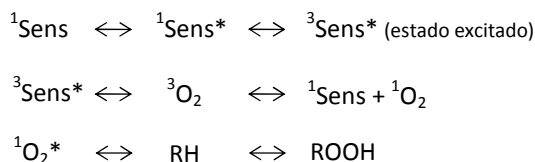
**Figura 4** – Representação da hidrólise completa de um triacilglicerol.

**Fonte:** SHAKHASHIRI, 2008.

### 1.3.4.2. Oxidação não-enzimática

A foto-oxidação é um mecanismo que envolve a participação de fotossensibilizadores (agente catalisador) e do singlete de oxigénio (agente oxidante) como intermediário reactivo. Fotossensibilizadores, como as clorofilas e os compostos heme, são moléculas capazes de absorver luz de um determinado comprimento de onda, de a transformar em energia útil e de a canalizar na formação de espécies reactivas de oxigénio. A estrutura básica destas moléculas é um anel porfirínico com um átomo central de magnésio (na clorofila) ou de ferro (nos compostos heme). Estes compostos absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na região do visível e U.V., transferindo essa energia para o tripleto de oxigénio ( $^3\text{O}_2$ ), que por inversão do *spin* de um electrão dá origem ao singlete de oxigénio ( $^1\text{O}_2$ ), na presença de um fotossensibilizador. O singlete de oxigénio é uma espécie reactiva de oxigénio (ROS) que reage directamente com as ligações duplas dos ácidos gordos insaturados, formando hidroperóxidos conjugados e não conjugados (compostos primários da oxidação), que por sua vez, através de degradações posteriores originam compostos secundários da oxidação (aldeídos, álcoois, hidrocarbonetos, etc.) (BOSKOU, 1998; CHOE *et al*, 2006; CHOE *et al*, 2009; GRAILLE, 2003; KANNER *et al*, 1992; TEJERO *et al*, 2004).

Este mecanismo encontra-se representado esquematicamente na figura seguinte (figura 5).

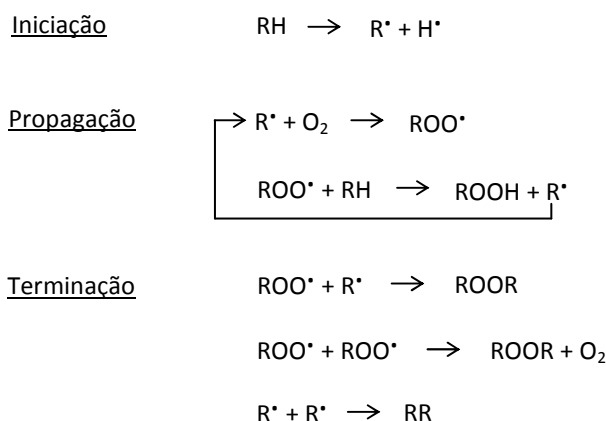


**Figura 5** – Representação do mecanismo de foto-oxidação.

**Fonte:** BOSKOU, 1998.

A auto-oxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos vegetais. É um processo dinâmico e evolutivo ao longo do tempo. Este fenómeno químico complexo envolve uma sequência de reacções classicamente definida em três etapas: iniciação, propagação e terminação (figura 6). Na primeira etapa, ocorre a formação do radical alquilo ( $\text{R}^{\bullet}$ ) devido à saída de um átomo de hidrogénio do carbono alílico da molécula do ácido gordo. Estas reacções apresentam elevada energia de activação ( $145 - 270 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) e não se desencadeiam espontaneamente, sendo potenciadas pela luz, pelo calor, pela presença de metais ou metaloproteínas (com grupo heme). Na segunda etapa, as radicais alquilo ( $\text{R}^{\bullet}$ ) formados vão reagir com o oxigénio ocorrendo a formação de radicais peróxido ( $\text{ROO}^{\bullet}$ ). Estes radicais vão reagir com outras moléculas de ácidos gordos surgindo os compostos primários da oxidação (peróxidos e hidroperóxidos), cuja estrutura depende da natureza dos ácidos gordos

presentes (ROOH). Os radicais livres formados nesta fase ( $R^\bullet$ ) actuam como propagadores da reacção. Na terceira etapa os radicais livres formados associam-se formando compostos estáveis, de baixa massa molar, responsáveis pelo odor de ranço, como aldeídos, álcoois, cetonas, furanonas, lactonas, ésteres, hidrocarbonetos, entre outros compostos secundários da oxidação (ROOR, ROOR +  $O_2$ , RR) (ALLEN *et al*, 1994; CHOE *et al*, 2006; FOX *et al*, 2006; GUNSTONE, 2004; KANNER *et al*, 1992; PARDAUIL *et al*, 2011; SMITH *et al*, 2006).



**Figura 6** – Esquema geral do mecanismo de auto-oxidação lipídica.

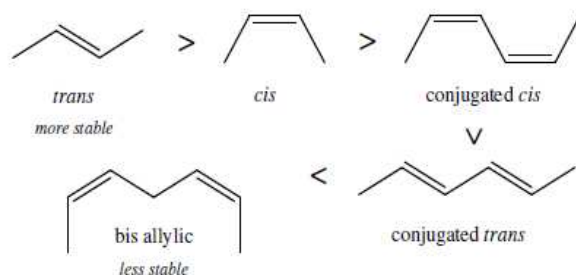
**Fonte:** ALLEN *et al*, 1994; FOX *et al*, 2006; GUNSTONE, 2004.

#### 1.3.4.3. Oxidação enzimática

A oxidação lipídica pode também ocorrer por catálise enzimática, nomeadamente, por acção da lipoxigenase. Esta enzima actua ao nível dos ácidos gordos polinsaturados, catalisando a adição de oxigénio à cadeia carbonada polinsaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com ligações duplas conjugadas, que podem envolver-se posteriormente em diversas reacções degradativas semelhantes às observadas no processo de auto-oxidação. Sendo uma reacção catalisada por enzimas, esta decorre com maior especificidade em termos de substratos e produtos finais, comparativamente ao mecanismo de auto-oxidação (ALLEN *et al*, 1994; ANDREOU *et al*, 2009; GUNSTONE, 2004).

Todos estes mecanismos de degradação referidos contribuem para a redução do tempo de vida útil do óleo. No entanto, a evolução destas reacções degradativas depende da composição inicial do óleo (concentração de compostos menores com características antioxidantes e pro-oxidantes, teor de ácidos gordos livres), do número e da natureza das ligações insaturadas presentes (insaturações *trans* são mais estáveis que insaturações *cis*, mas insaturações *trans* conjugadas são mais sensíveis à oxidação que as insaturações *cis* conjugadas) (figura 7), das condições a que o óleo é submetido

durante o processamento e das condições de armazenagem (BERTHIAUME *et al*, 2006; CRAPISTE *et al*, 1999; FOX *et al*, 2006).



**Figura 7** – Ordem decrescente de estabilidade oxidativa das diversas configurações.

**Fonte:** BERTHIAUME *et al*, 2006.

### 1.3.5. Antioxidantes

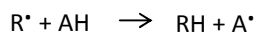
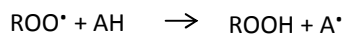
#### 1.3.5.1. Papel dos antioxidantes nos óleos vegetais

Os antioxidantes apresentam um papel fundamental no combate à oxidação. São substâncias presentes naturalmente ou adicionadas aos alimentos com o objectivo de impedir ou retardar as reacções de oxidação dos lípidos, mantendo intactas as suas características sensoriais devido à sua capacidade de reduzir a ocorrência dos efeitos indesejáveis desse tipo de reacções. Os antioxidantes são um conjunto heterogéneo de substâncias formado por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e enzimas que bloqueiam o efeito dos radicais livres. Do ponto de vista químico, são compostos aromáticos que contêm, no mínimo, um grupo hidroxilo, podendo ser sintéticos, naturais, substâncias bioactivas, como, organosulfurados, fenólicos e terpenos (FOX *et al*, 2006; MOURE *et al*, 2001).

#### 1.3.5.2. Classificação dos antioxidantes

Os antioxidantes podem ser classificados de diversas formas. Relativamente ao respectivo mecanismo de acção podem ser agrupados da seguinte forma: antioxidantes primários (tipo I) e secundários (tipo II) (ALLEN *et al*, 1994; CHOE *et al*, 2009; FOX *et al*, 2006; GUNSTONE, 2004; GUZMAN *et al*, 2009).

Os antioxidantes primários são substâncias capazes de interromper a cadeia de radicais, geralmente de natureza fenólica, promovendo a remoção ou inactivação dos radicais livres formados durante as etapas iniciação e propagação, através da doação de átomos de hidrogénio a estas moléculas e assumindo, conseqüentemente, a forma de radical (figura 8) (FOX *et al*, 2006; GRAILLE, 2003).



**Figura 8** – Mecanismo de acção dos antioxidantes primários.

**Fonte:** GUNSTONE, 2004.

O átomo de hidrogénio do antioxidante (AH) é sequestrado pelos radicais livres ( $\text{ROO}^\bullet$  e  $\text{R}^\bullet$ ) com maior facilidade comparativamente aos átomos de hidrogénio alílicos das moléculas insaturadas. O resultado é a formação de um radical estável ( $\text{A}^\bullet$ ) que não detém capacidade de iniciar ou propagar as reacções oxidativas (GRAILLE, 2003).

Os principais antioxidantes primários são os polifenóis como o butil-hidroxianisol (BHA, E320), o butil-hidroxitolueno (BHT, E321), o terc-butil-hidroquinona (TBHQ, E319) e o galato de propilo (GP, E310)), antioxidantes sintéticos, e os tocoferóis ( $\alpha, \beta, \delta, \gamma$ , E306 – 309), antioxidantes naturais. Relativamente ao poder antioxidante dos vários isómeros de tocoferóis, o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) é o que apresenta menor capacidade antioxidante, seguindo-se o isómero  $\beta, \gamma$  e o  $\delta$ -tocoferol, com o maior poder antioxidante (ALLEN *et al*, 1994; FOX *et al*, 2006; GRAILLE, 2003; GUNSTONE, 2004).

Os antioxidantes enzimáticos usam as espécies reactivas de oxigénio como substrato. Estas enzimas (APX – ascorbato-peroxidase; CAT – catalase; SOD – superóxido-dismutase; GPX – glutathione-peroxidase; etc.) podem, também, actuar na regeneração de antioxidantes. Relativamente ao mecanismo antioxidante, a enzima APX efectua a redução do radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ) e do peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) em água usando electrões do NADPH enquanto que as enzimas CAT, SOD e GPX catalisam a mesma reacção mas usando agentes redutores específicos. Apesar de não se encontrarem nos óleos vegetais refinados, estes antioxidantes são importantes aditivos utilizados em alimentos à base de óleos (GRAILLE, 2003).

Os antioxidantes secundários são compostos cuja acção antioxidante resulta de efeitos sinérgicos. São substâncias com menor actividade antioxidante, capazes de aumentar a actividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada (ex.: o ácido ascórbico pode actuar como sinérgico na regeneração de antioxidantes primários; o ácido cítrico apresenta um efeito sinérgico com o TBHQ). Alguns antioxidantes primários quando usados em combinação podem, também, actuar sinergisticamente, (ex.: O BHA e o BHT têm efeitos sinérgicos entre si, uma vez que, o BHA tem a capacidade de sequestrar radicais peróxidos, enquanto que, o BHT actua como regenerador dos radicais BHA) (CHOE *et al*, 2009; FOX *et al*, 2006; GRAILLE, 2003; GUZMAN *et al*, 2009).

Alguns destes antioxidantes têm a capacidade de capturar o oxigénio presente no meio, ficando este indisponível para actuar como propagador da auto-oxidação. O ácido ascórbico e os seus isómeros e derivados são exemplos representativos deste grupo.

Os agentes quelantes (antioxidantes tipo II) complexam iões metálicos como o cobre e o ferro. A sua acção depende do pH e da temperatura, por influenciarem a estabilidade dos complexos formados. Os antioxidantes mais comuns representativos deste grupo são o ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de ácido etilenodiamio tetra-acético (EDTA). Apesar de não se encontrar nos óleos vegetais refinados, o antioxidante EDTA é um aditivo utilizado em alimentos à base de óleos (CHOE *et al*, 2006; FOX *et al*, 2006; GUNSTONE, 2004).

Antioxidantes como os carotenóides (ex.: licopeno) e flavonóides, entre outros, reagem directamente com o singlete de oxigénio ( $^1\text{O}_2$ ) e outros radicais, inactivando-os (GAILLE, 2003).

No entanto, a capacidade dos antioxidantes é afectada mediante diversos factores, nomeadamente, a composição do óleo (a presença de elevadas concentrações de ácidos gordos polinsaturados reduz o benefício de qualquer antioxidante), condições ambientais (a temperaturas elevadas alguns antioxidantes são degradados e perdem a sua capacidade, outros, como os tocoferóis perdem alguma da sua eficácia) (FOX *et al*, 2006; MOURE *et al*, 2001).

No processo de refinação o teor de antioxidantes naturais dos óleos é afectado. As características físico-químicas de cada óleo bruto e a presença de determinados contaminantes (ex.: pesticidas) exige um constante ajuste das condições de refinação do óleo, de forma a garantir a qualidade do óleo refinado, nomeadamente, pela eliminação de contaminantes. As condições de pressão e temperatura a que o óleo é submetido durante o processo de refinação conduzem a perdas de nutrientes e antioxidantes naturais, como carotenóides e tocoferóis, aumentando a susceptibilidade do óleo à oxidação.

#### **1.3.6. Estabilidade Oxidativa**

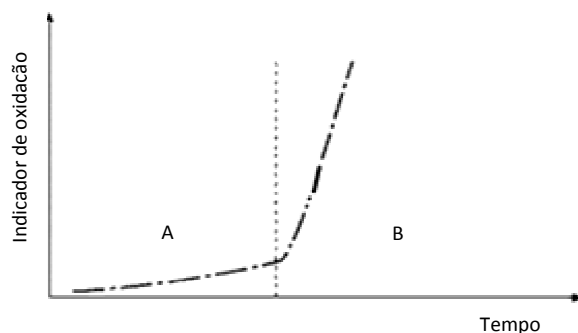
A estabilidade oxidativa não depende apenas da composição química, mas reflecte também a qualidade da matéria-prima, as condições a que foi submetido o óleo durante o processamento e as condições de transporte e armazenamento. Os principais factores que afectam ou catalisam a oxidação lipídica são: a presença de insaturações nos ácidos gordos, a luz, a temperatura, a presença de antioxidantes e pro-oxidantes, as enzimas, as metaloproteínas e os microrganismos (ANTONIASSI, 2001; CHOE *et al*, 2006; CRAPISTE *et al*, 1999; PRZYBYLSKI *et al*, 2000).

Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de conhecer melhor a estabilidade oxidativa do óleo, através de estudos sistemáticos sobre os efeitos dos diversos factores. No entanto, estes factores influenciam de forma interactiva o processo de oxidação dificultando a diferenciação das consequências individuais de cada factor. Neste sentido, torna-se impossível avaliar a extensão da oxidação recorrendo a uma única investigação e análise, sendo importante conciliar diferentes métodos para obter respostas conclusivas (CHOE *et al*, 2006; COMANDINI *et al*, 2009; POLVILHO *et al*, 2004).

#### 1.3.6.1. Testes de oxidação acelerada

Os métodos de determinação da estabilidade oxidativa surgiram numa tentativa de prever o tempo de vida útil dos óleos e gorduras. Para avaliar a sua susceptibilidade à oxidação, o óleo ou gordura é submetido a testes de oxidação acelerada, sob condições padronizadas e controladas. Com o intuito de acelerar a oxidação, o óleo ou gordura é submetido a: elevadas temperaturas, adição de catalisadores metálicos ou enzimas, aumento da pressão de oxigénio, exposição à luz e agitação. Contudo, o factor temperatura é o mais aplicado e eficiente (ANTONIASI, 2001; COMANDINI *et al*, 2009; FREGA *et al*, 1999).

Uma das dificuldades detectadas reside na selecção do momento mais adequado para efectuar a determinação do nível de oxidação. De um modo geral, pretende-se avaliar, em determinadas condições padronizadas, o índice de estabilidade oxidativa ou período de indução da reacção, ou seja, o tempo decorrido até que se atinja um ponto crítico de oxidação (alteração do aroma e do sabor, detecção do ranço, aceleração brusca da velocidade de oxidação) (figura 9). A determinação deve ser efectuada ao longo de tempo para que seja representativa do tempo de vida útil do óleo (ANTONIASI, 2001; CHOE *et al*, 2006; POLVILHO *et al*, 2004).



**Figura 9** – Evolução do processo oxidativo. A – Período de indução (iniciação); B – Propagação.

**Fonte:** SILVA *et al*, 1999.

Considerando uma curva de condutividade eléctrica ( $\mu\text{s}$ ) vs tempo, o período de indução ou índice de estabilidade oxidativa corresponde ao ponto de intercepção obtido através de duas rectas tangentes

(figura 9). No período de indução, não existe uma formação significativa de compostos secundários de oxidação. No entanto, iniciando-se a fase de propagação, ocorre um rápido aumento da taxa de oxidação, do índice de peróxidos, da absorção de oxigénio, da formação de compostos voláteis, etc. (ANTONIASSI, 2001; LÄUBLI *et al*, 1986; POLVILHO *et al*, 2004).

Os produtos primários da oxidação podem ser monitorizados pela determinação do índice de peróxidos através de diversos métodos, nomeadamente, o método iodométrico de *Lea* (avaliação do iodo produzido a partir da decomposição do iodeto de potássio por parte dos peróxidos presentes), método colorimétrico (oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  pelos peróxidos, o qual é doseado por colorimetria, a um comprimento de onda de 500 nm, sob a forma de cloreto ou tiocianato férrico), método do oxigénio activo (AOM: *Active Oxygen Method*) ou teste de *Swift* (a amostra é submetido a uma corrente de ar purificada com um fluxo contínuo e a uma temperatura de 98 °C), teste de estufa de *Schaal* (envolve o aquecimento a 60 – 70 °C da amostra numa estufa, até ao aparecimento dos primeiros sinais de oxidação), entre outros. As alterações secundárias são normalmente avaliadas pelo índice de *p*-anisidina (a *p*-anisidina, em meio acético, forma um complexo de cor amarela com os aldeídos que possuem duas ligações duplas conjugadas, em particular com o *trans,trans*-2,4-decadienal resultante da degradação do ácido linoleico), pelo teste do ácido 2-tiobarbitúrico (teste baseado na reacção do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos), por métodos cromatográficos, pelo *Rancimat* (método condutivimétrico onde a amostra poderá ser submetida a diversas temperaturas e a um fluxo de ar contínuo), etc. (ANTONIASSI, 2001; COMANDINI *et al*, 2009; CRAPISTE, 1999; FOX *et al*, 2006; GERTZ *et al*, 2000). Na indústria os métodos acima referidos constituem uma rotina de controlo de qualidade dos óleos vegetais devido à eficiência e rapidez de resultados que permitem obter (COMANDINI *et al*, 2009).

Apesar da diversidade de métodos que permitem avaliar a estabilidade oxidativa, nenhum deles se correlaciona de um modo perfeito com as alterações organolépticas produzidas no decurso das reacções de oxidação. Cada método fornece informação relativa a um estado particular do processo oxidativo, que é variável em função das condições aplicadas e do tipo de óleo. Para avaliar o estado de oxidação é importante conjugar múltiplas técnicas analíticas e de investigação devido à complexidade de reacções químicas envolvidas no processo oxidativo e do amplo conjunto de compostos formados durante esse processo. (COMANDINI *et al*, 2009; CRAPISTE *et al*, 1999; POLVILHO *et al*, 2004).

#### 1.3.6.2. Principais limitações dos testes de oxidação acelerada

A ausência de correlação entre os diferentes métodos deve-se, por um lado, às eventuais variações de compostos com actividade antioxidante e pro-oxidante, aos indicadores utilizados na avaliação do



nível de oxidação (índice de peróxidos, índice de *p*-anisidina, espectrofotometria no U.V., etc.) que não reflectem a mesma evolução do processo oxidativo, e por outro, às condições experimentais em que se efectuam as referidas determinações (temperatura, pressão de oxigénio, exposição à luz, etc.) (ANTONIASSI, 2001; POLVILHO *et al*, 2004).

Nos ensaios de estabilidade oxidativa mais comuns, a oxidação é acelerada pela temperatura e pela oxigenação. As elevadas temperaturas potenciam a ocorrência de reacções paralelas (ex.: polimerização), normalmente irrelevantes à temperatura normal de armazenamento. Como consequência, verifica-se a formação de novos antioxidantes ou pro-oxidantes que podem falsear as determinações. Por outro lado, a velocidade de oxidação depende, também, da concentração em oxigénio, cuja solubilidade diminui com o aumento da temperatura (COMANDINI *et al*, 2009; RUIZ *et al*, 2008).

Os testes de oxidação acelerada não fornecem garantias quanto à validade da sua extrapolação para as condições normais de conservação e uso dos produtos, neste caso, dos óleos vegetais, uma vez que, à medida que se submete a amostra a temperaturas elevadas, à luz, ao oxigénio ou outro factor, o mecanismo de oxidação altera-se. Assim, os resultados obtidos sofrem desvios dos valores reais, já que o comportamento do óleo nestas condições é diferente das condições normais de armazenamento. As condições de ensaio devem aproximar-se, tanto quanto possível, das condições normais de armazenamento. Os resultados de maior validade são obtidos a temperaturas compreendidas entre os 40 – 60 °C. Para a sua interpretação é fundamental considerar a eventual presença de substâncias endógenas, como antioxidantes e/ou pro-oxidantes (ANTONIASSI, 2001; COMANDINI *et al*, 2009; FOX *et al*, 2006).

### **1.3.7. Consumo *per capita* dos óleos vegetais**

Segundo o Instituto Nacional de Estatística, o consumo de óleos e gorduras vegetais, *per capita*, cresceu cerca de 8 % entre 1990 e 2002. Na União Europeia, dos países que apresentaram maior consumo de óleos e gorduras vegetais entre 1990 e 2000, destaca-se a Grécia como o principal consumidor (45,9 kg habitante<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>). Portugal, no mesmo período, ocupou a sexta posição, com um consumo *per capita* de 21,3 kg habitante<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>, abaixo da Espanha (31,6 kg habitante<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>) e da Itália (26,4 kg habitante<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>), países mediterrânicos com tradição no consumo deste grupo de alimentos. A Suécia apresentou o menor consumo, com um valor *per capita* de 3,2 kg habitante<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. De 2005 a 2007 verificou-se um decréscimo no consumo deste grupo de alimentos, no entanto, entre 2007 e 2009, registou-se, novamente, um acréscimo no consumo de gorduras e óleo vegetais, destacando-se o óleo de girassol com os maiores consumos *per capita*, face ao óleo de soja, entre outros (INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA, 2011; INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA, s.d.).

## II. Parte Experimental

O presente estudo apresenta como objectivo principal a determinação de um modelo para estabelecer a vida útil de quatro óleos vegetais refinados (óleo de girassol, girassol<sub>spray</sub>, óleo de soja e óleo de amendoim).

Os óleos vegetais refinados em estudo, à excepção do girassol<sub>spray</sub>, apresentam uma embalagem primária idêntica, de politereftalato de etileno (PET), com a capacidade de 1 L e com atmosfera protegida com um gás inerte (azoto). O óleo girassol<sub>spray</sub> apresenta uma embalagem primária em *spray*, do mesmo material (PET) mas com uma capacidade de 250 mL. Apesar da composição destes dois óleos ser similar, o óleo girassol<sub>spray</sub> não apresenta uma atmosfera protegida.

As diversas amostras foram submetidas a condições experimentais distintas. Este estudo foi desenvolvido essencialmente em três fases.

O primeiro ensaio (ensaio 1) foi realizado à temperatura ambiente com o intuito de registar a evolução oxidativa de três óleos vegetais refinados (óleo de girassol, óleo de soja e óleo de amendoim), durante 18 meses. No entanto, pretendendo-se prever de forma rápida a vida útil de alguns óleos (óleo de girassol e girassol<sub>spray</sub>) foi necessário acelerar o processo de degradação dos mesmos através de testes de envelhecimento forçado, mediante testes efectuados em estufa (ensaio 2) e no *Rancimat* (ensaio 3), conjugando factores como a temperatura, o oxigénio e o peso da amostra.

Em todos os ensaios foi efectuado um acompanhamento da evolução oxidativa das diversas amostras mediante a determinação periódica de alguns parâmetros analíticos, nomeadamente, do índice de peróxidos, da acidez e dos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 230, 232, 268 e 270 nm, através das metodologias de análise descritas no anexo I. Com o intuito de avaliar as implicações da evolução oxidativa registada nas características organolépticas, procedeu-se, também, à avaliação do aroma e do sabor de algumas amostras. Esta avaliação foi efectuada com base na metodologia descrita no anexo I.

Nos capítulos seguintes serão referidos os ensaios realizados, com uma descrição detalhada dos objectivos, da metodologia experimental, bem como dos resultados e das conclusões obtidas.

## **II. 1. Ensaio 1 – Estudo da estabilidade oxidativa à temperatura ambiente**

### **1.1. Objectivos**

Os testes de oxidação acelerada poderão não fornecer garantias quanto à validade da sua extrapolação para as condições normais de conservação e uso dos óleos vegetais, uma vez que, à medida que se submete a amostra a temperaturas elevadas, à luz, ao oxigénio ou outro factor, o mecanismo de oxidação altera-se. Neste sentido, o presente ensaio foi efectuado com o intuito de avaliar a evolução oxidativa à temperatura ambiente, ao longo de 18 meses, em três óleos vegetais distintos: óleo de girassol, óleo de soja e óleo de amendoim.

### **1.2. Metodologia experimental**

A monitorização da evolução oxidativa à temperatura ambiente, ao longo de 18 meses, foi efectuada mediante a determinação periódica de alguns parâmetros analíticos. Posteriormente, procedeu-se à avaliação do aroma e do sabor dos diversos óleos de forma a avaliar os efeitos da evolução oxidativa nas características organolépticas dos mesmos. A determinação do índice de peróxidos foi efectuada nos diversos óleos, da acidez no óleo de soja e de amendoim e dos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 230 e 270 nm, unicamente, no óleo de soja.

Estes parâmetros foram determinados, inicialmente, no mês de produção e embalamento do produto e posteriormente em intervalos de 2 meses. Neste sentido, foram necessárias dez garrafas de lotes diversos de forma a abranger os 18 meses de análise. Estas garrafas, devidamente capsuladas, permaneceram acondicionadas em caixas de cartão canelado à temperatura ambiente, ocorrendo a exposição do óleo com o oxigénio, unicamente, no momento da recolha das amostras para proceder às determinações referidas.

### **1.3. Resultados**

Os resultados obtidos encontram-se registados em tabelas e representados graficamente nos anexos II, III e IV, para o óleo de girassol, óleo de soja e óleo de amendoim, respectivamente.

#### **1.3.1. Óleo de girassol**

Com base nos resultados constantes na tabela I do anexo II calculou-se o índice de peróxidos médio correspondente a cada mês de análise (tabela IV).

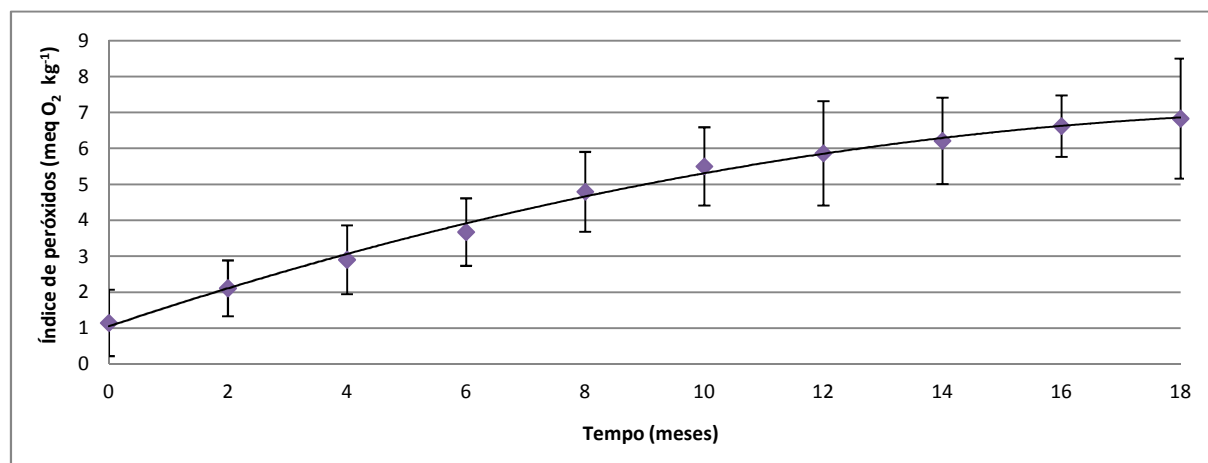
Com o objectivo de obter um intervalo de valores representativo de cada mês de análise, determinou-se o desvio-padrão e, por conseguinte, o intervalo de valores associado (tabela IV). Este intervalo foi calculado com base na média mensal, subtraindo e somando o valor do desvio-padrão à

média, de forma a obter o mínimo e o máximo, respectivamente, desse intervalo. Numa distribuição normal, este intervalo significa que 68 % dos índices de peróxidos se encontram a uma distância da média inferior a um desvio-padrão.

**Tabela IV** – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos para cada mês de análise do óleo de girassol.

Mês de análise	Média (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão
0	1,15	0,92
2	2,12	0,78
4	2,91	0,96
6	3,68	0,94
8	4,80	1,11
10	5,51	1,09
12	5,87	1,45
14	6,22	1,20
16	6,63	0,85
18	6,84	1,67

Após a determinação da média mensal e do respectivo desvio padrão obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 10):



**Figura 10** – Evolução média do índice de peróxidos de 12 lotes de óleo de girassol e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise.

Pela análise da figura 10 verifica-se uma evolução média crescente ao longo dos 18 meses de vida útil do óleo. Estes resultados determinam que estamos, ainda, perante a fase de produção de compostos primários da oxidação.

A evolução média do índice de peróxidos ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação (percentagem da variação da variável dependente – índice de peróxidos – explicada pela variável dependente - tempo) de 0,996 e definida pela seguinte equação (FREUND, 2004):

$$y = -0,0129x^2 + 0,5548x + 1,0477$$

Substituindo a variável independente (x) por valores superiores aos avaliados neste ensaio, é possível prever o índice máximo de peróxidos que o óleo de girassol atinge à temperatura ambiente (tabela V).

**Tabela V** – Previsão média mensal do índice de peróxidos representativo de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio.

Tempo (meses)	Índice de Peróxidos (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
20	6,97
22	6,99
23	6,97
24	6,91
26	6,73
28	6,45

Tendo em conta que estes resultados são meramente indicativos, assume-se o mês 22 como o máximo da reacção, por apresentar o índice de peróxidos mais elevado, a partir do qual, se verifica uma redução gradual do mesmo.

Com o objectivo de estudar a variabilidade entre lotes determinou-se os coeficientes de correlação de Pearson (r) apresentados na tabela seguinte (tabela VI), onde,  $r = +1$  significa uma correlação perfeitamente positiva,  $+1 > r > 0$  significa uma correlação positiva,  $r = 0$  significa ausência de correlação,  $-1 < r < 0$  significa uma correlação negativa/inversa e  $r = -1$  significa uma correlação perfeitamente negativa/inversa (FREUND, 2004).

**Tabela VI** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes ( $\pm 1\sigma$ ), do óleo de girassol.

	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12
L1	1											
L2	0,877	1										
L3	0,540	0,525	1									
L4	0,890	0,958	0,708	1								
L5	0,948	0,915	0,628	0,929	1							
L6	0,903	0,941	0,692	0,964	0,949	1						
L7	0,623	0,756	0,760	0,881	0,690	0,794	1					
L8	0,689	0,804	0,322	0,712	0,770	0,772	0,451	1				

L9	0,837	0,936	0,472	0,908	0,825	0,845	0,711	0,731	1			
L10	0,832	0,913	0,785	0,928	0,938	0,938	0,775	0,832	0,785	1		
L11	0,941	0,949	0,556	0,928	0,914	0,948	0,688	0,814	0,894	0,885	1	
L12	0,727	0,857	0,670	0,889	0,713	0,820	0,827	0,597	0,899	0,772	0,838	1

□ Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela VI verificou-se que as correlações entre lotes foram todas positivas mas bastante variáveis, destacando-se a correlação entre L8 e L3 por apresentar o menor valor ( $r=0,322$ ). Considerando apenas coeficientes de correlação entre lotes diferentes, cerca de 29 % das correlações efectuadas, apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 56 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80.

Esta variabilidade entre lotes poderá estar relacionada com as características intrínsecas de cada lote de óleo (diferentes perfis de ácidos gordos), condições de refinação, ou, eventualmente, devido às diferentes condições de armazenamento das amostras durante todo o período de análise.

Com o objectivo de melhorar o ajustamento dos pontos à curva polinomial, ou seja, melhorar o coeficiente de determinação associado a cada lote, bem como, melhorar as correlações entre lotes, eliminaram-se os *outliers* identificados previamente da sequência evolutiva. Neste sentido, foi necessário recalcular o desvio-padrão e o respectivo intervalo de valores representativo de cada mês de análise (tabela VII).

**Tabela VII** – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos após a eliminação de *outliers* identificados.

Mês de análise	Média (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão
0	0,90	0,36
2	2,12	0,78
4	2,91	0,96
6	3,68	0,94
8	4,80	1,11
10	5,51	1,09
12	5,75	0,87
14	6,12	0,69
16	6,63	0,85
18	7,21	1,12

Posteriormente, identificou-se os índices de peróxidos que não se enquadravam no novo intervalo definido e excluíram-se esses valores do estudo. De forma a verificar a eventual melhoria na

correlação entre os diferentes lotes, determinou-se, novamente, o coeficiente de correlação associado (tabela VIII).

**Tabela VIII** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a eliminação de *outliers* identificados e índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 1\sigma$ ).

	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12
L1	1											
L2	0,802	1										
L3	0,522	0,994	1									
L4	0,959	0,991	0,968	1								
L5	0,960	0,941	0,945	0,982	1							
L6	0,911	0,987	0,943	0,970	0,955	1						
L7	0,993	1	1	0,993	0,962	1	1					
L8	0,769	0,956	0,866	1	0,920	0,922	1	1				
L9	0,963	0,992	0,976	0,990	0,982	0,983	0,987	0,966	1			
L10	0,990	0,889	0,956	0,982	0,997	0,931	1	0,752	0,998	1		
L11	0,956	0,982	0,987	0,989	0,970	0,993	0,997	0,950	0,989	0,998	1	
L12	0,998	0,882	1	0,955	0,933	0,956	0,991	0,977	0,960	0,934	0,969	1

□ Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela VIII verificou-se que as correlações entre lotes apresentaram uma melhoria significativa, destacando-se sete correlações perfeitamente positivas (entre L2 e L7; L3 e L7; L3 e L12; L4 e L8; L6 e L7; L7 e L8; L7 e L10). Após a eliminação dos valores discrepantes a correlação mais baixa identificada (entre L8 e L10) apresentou um valor 0,522, muito superior à correlação mais baixa identificada anteriormente.

Considerando apenas coeficientes de correlação entre lotes diferentes, cerca de 89 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice de peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 95 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80, o que traduz um elevado nível de semelhança relativamente à evolução do índice de peróxidos dos diversos lotes em estudo.

No entanto, o intervalo definido a partir do desvio-padrão e da média mensal (tabela VII), exige a exclusão de demasiados valores da sequência evolutiva de cada lote, o que poderá afastar demasiado os resultados da realidade.

Neste sentido, optou-se por definir um intervalo menos apertado, subtraindo e somando duas vezes o desvio-padrão, para obter o mínimo e o máximo, respectivamente, do novo intervalo. Numa

distribuição normal, este intervalo significa que 95 % dos índices de peróxidos se encontram a uma distância da média inferior a dois desvios-padrão.

Posteriormente, identificaram-se os índices de peróxidos que não se enquadravam no novo intervalo definido e excluíram-se esses valores do estudo.

De forma a verificar as alterações ocorridas na correlação entre os diferentes lotes, determinou-se, novamente, o coeficiente de correlação associado (tabela IX).

**Tabela IX** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a eliminação de *outliers* identificados e índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 2\sigma$ ).

	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12
L1	1											
L2	0,918	1										
L3	0,747	0,881	1									
L4	0,951	0,967	0,933	1								
L5	0,932	0,948	0,842	0,966	1							
L6	0,928	0,981	0,845	0,964	0,963	1						
L7	0,872	0,917	0,880	0,950	0,897	0,897	1					
L8	0,865	0,956	0,786	0,904	0,892	0,915	0,904	1				
L9	0,910	0,898	0,910	0,908	0,864	0,845	0,754	0,848	1			
L10	0,841	0,957	0,844	0,928	0,952	0,938	0,935	0,927	0,785	1		
L11	0,950	0,960	0,754	0,928	0,900	0,948	0,870	0,929	0,894	0,885	1	
L12	0,866	0,893	0,912	0,907	0,806	0,855	0,855	0,890	0,909	0,801	0,900	1

☐ Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela IX verificou-se que as correlações entre lotes apresentaram uma melhoria significativa, comparativamente aos resultados obtidos na tabela VI, onde todos os valores foram considerados, incluindo *outliers*, apesar de o mesmo não se ter verificado com a última avaliação (tabela VIII). Neste caso, a correlação mais baixa identificada corresponde à correlação entre L1 e L3 (0,747), assumindo um valor muito superior ao identificado na tabela VIII (0,522). Considerando apenas coeficientes de correlação entre lotes diferentes, cerca de 55 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice de peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 94 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80, o que traduz um elevado nível de semelhança relativamente à evolução do índice de peróxidos dos diversos lotes em estudo.

Relativamente aos coeficientes de determinação, é possível verificar as alterações ocorridas na tabela seguinte (tabela X), onde a coluna A considera a totalidade dos índices de peróxidos ao longo



dos 18 meses, a coluna B considera a exclusão dos *outliers* identificados e os índices de peróxidos que não se encontram dentro do intervalo definido por  $\pm 1\sigma$  e a coluna C considera a exclusão dos *outliers* identificados e os índices de peróxidos que não se encontram dentro do intervalo definido por  $\pm 2\sigma$ .

**Tabela X** – Comparação dos coeficientes de determinação de cada lote de óleo de girassol.

Lotes	Coeficientes de determinação ( $R^2$ )		
	A	B	C
L1	0,837	0,898	0,905
L2	0,958	0,959	0,971
L3	0,874	0,982	0,897
L4	0,980	0,985	0,980
L5	0,885	0,944	0,915
L6	0,940	0,970	0,940
L7	0,763	1,000	0,956
L8	0,714	0,953	0,930
L9	0,950	0,999	0,950
L10	0,893	0,942	0,893
L11	0,931	0,960	0,931
L12	0,811	0,966	0,877

Comparando a coluna A com a B e C, verifica-se uma melhoria na totalidade dos coeficientes de determinação de cada lote, o que sugere que os *outliers* identificados influenciam significativamente os resultados, bem como os índices de peróxidos fora dos intervalos definidos. Relativamente às colunas B e C, a generalidade dos lotes apresentou uma ligeira melhoria na coluna B, uma vez que o intervalo definido era mais apertado, o que implicou a exclusão de um maior número de valores. No entanto, verifica-se que a generalidade dos coeficientes de determinação obtidos com um intervalo de valores definido por  $\pm 2\sigma$  em torno da média apresentaram um valor superior a 0,90, à excepção do lote L3, com um valor 0,897, o que sugere um bom ajustamento dos índices de peróxidos à curva polinomial, ao longo dos 18 meses. Considerando a totalidade dos índices de peróxidos de cada um dos lotes ao longo dos 18 meses, verificou-se que apenas 2 lotes apresentam um coeficiente de determinação inferior a 0,80 e 5 dos lotes estudados apresentam um coeficiente de determinação superior a 0,90. Este resultado sugere um ajustamento à curva polinomial bastante razoável o que evidencia a estabilidade deste óleo.

Com o intuito de analisar as eventuais implicações que esta evolução oxidativa poderá apresentar sobre a sua avaliação organoléptica, ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, diversos lotes foram avaliados e classificados em termos de aroma e sabor.

Os resultados obtidos podem ser consultados na tabela II no anexo II. Posteriormente, calculou-se a moda correspondente a cada mês de análise (tabela XI).

**Tabela XI** – Evolução da moda das classificações do aroma e do sabor do óleo de girassol.

Moda	Mês de análise									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Aroma	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3
Sabor	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3

Pela análise da tabela XI, verifica-se uma evolução modal semelhante no aroma e no sabor. Apesar de ao sexto mês de análise a classificação diminuir, observa-se que ao longo dos 18 meses o óleo de girassol apresenta uma boa apreciação em termos de aroma e de sabor. Neste período, apenas foi detectado aroma e sabor a ranço em 3 lotes ao 18º mês (tabela II do anexo II), o que indica que neste período de tempo a formação de compostos secundários de oxidação (aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.) é extremamente reduzida.

### 1.3.2. Óleo de soja

Os resultados obtidos relativos à evolução do índice de peróxidos referente a cada um dos lotes encontram-se na tabela I e representados graficamente na figura 1 no anexo III. Pela análise da tabela I presente no anexo III é possível verificar que a evolução do índice de peróxidos de cada lote ao longo dos 18 meses de análise é bastante instável. Este facto poderá ser relacionado com as características da própria semente de soja, às características intrínsecas de cada óleo (diferentes perfis de ácidos gordos), condições de refinação, ou, eventualmente, a condições inadequadas de armazenamento das amostras. As determinações analíticas, neste óleo, exigem um rigor supremo para que os resultados não sejam afectados, o que poderá também ter contribuído para as oscilações observadas.

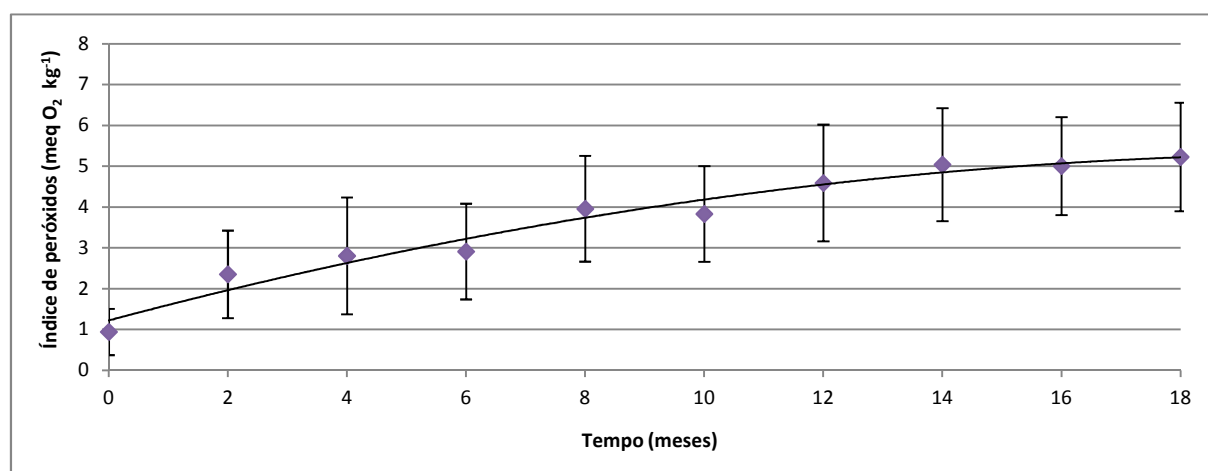
Posteriormente, calculou-se o índice de peróxidos médio correspondente a cada mês de análise (tabela XII). Com o objectivo de obter um intervalo de valores representativo de cada mês de análise, determinou-se o desvio-padrão e, por conseguinte, o intervalo de valores associado (tabela XII).

**Tabela XII** – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos para cada mês de análise do óleo de soja.

Mês de análise	Média (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão
0	0,94	0,57
2	2,35	1,07
4	2,80	1,43

6	2,91	1,17
8	3,96	1,30
10	3,83	1,17
12	4,59	1,43
14	5,04	1,39
16	5,00	1,20
18	5,23	1,33

Os valores de desvio-padrão obtidos para cada mês de análise foram bastante superiores comparativamente ao óleo de girassol, o que sugere uma variabilidade de índices de peróxidos, na generalidade dos lotes, muito superior. Após a determinação da média mensal e do respectivo desvio padrão obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 11):



**Figura 11** – Evolução média do índice de peróxidos de 15 lotes de óleo de soja e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise.

Pela análise da figura 11 verifica-se uma evolução média crescente ao longo dos 18 meses de vida útil do óleo. Estes resultados determinam que estamos, ainda, perante a fase de produção de compostos primários da oxidação.

Comparado este resultado com a evolução média do índice de peróxidos do óleo de girassol, verifica-se que, em ambos os casos, a tendência evolutiva é semelhante, embora, o óleo de girassol revele um índice de peróxidos ligeiramente superior no primeiro e último mês de análise. Uma vez que o óleo de soja apresenta um grau de insaturação ligeiramente inferior ao óleo de girassol, ou seja, uma percentagem ligeiramente inferior de ácidos gordos polinsaturados e uma percentagem ligeiramente superior de monoinsaturados e saturados, poderá ser menos susceptível à oxidação. Por outro lado, o elevado teor de antioxidantes naturais que caracteriza o óleo de soja, garante um combate mais efectivo aos radicais livres formados nas fases iniciação e propagação, garantindo um menor índice

de peróxidos ao longo dos 18 meses, relativamente ao óleo de girassol. A diferença inicial verificada no índice de peróxidos do óleo de girassol e do óleo de soja (ligeiramente inferior no óleo de soja) poderá também ser relacionada com o teor de compostos oxidáveis presentes em cada um dos óleos. O óleo de soja apresenta um teor de esteróis ligeiramente inferior ao óleo de girassol, o que poderá influenciar o índice de peróxidos obtido.

A evolução média do índice de peróxidos ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação de 0,9673 e definida pela seguinte equação:

$$y = -0,0092x^2 + 0,3885x + 1,2212$$

Substituindo a variável independente (x) por valores superiores aos avaliados neste ensaio, é possível prever o índice máximo de peróxidos que o óleo de soja atinge à temperatura ambiente (tabela XIII).

**Tabela XIII** – Previsão média mensal do índice de peróxidos representativo de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio.

Tempo (meses)	Índice de Peróxidos (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
20	5,31
22	5,32
23	5,29

Tendo em conta que estes resultados são meramente indicativos, assume-se o mês 22 como o máximo da reacção, por apresentar o índice de peróxidos mais elevado, a partir do qual, se verifica uma redução gradual do mesmo. O mesmo resultado se verificou no óleo de girassol, apesar do índice máximo obtido, neste caso, ser inferior.

Com o objectivo de estudar a variabilidade entre lotes, determinaram-se os coeficientes de correlação de Pearson, apresentados na tabela seguinte (tabela XIV).

**Tabela XIV** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes ( $\pm 1\sigma$ ), do óleo de soja.

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1														
S2	0,539	1													
S3	0,640	0,858	1												
S4	0,799	0,779	0,897	1											
S5	0,449	0,473	0,721	0,773	1										
S6	0,202	0,033	0,215	0,247	0,105	1									
S7	0,431	0,804	0,807	0,657	0,576	0,039	1								
S8	0,339	0,763	0,876	0,709	0,698	0,249	0,881	1							
S9	0,282	0,859	0,870	0,608	0,444	0,194	0,812	0,866	1						
S10	0,422	0,870	0,863	0,730	0,621	0,070	0,953	0,930	0,859	1					

S11	0,164	0,565	0,322	0,413	0,246	0,136	0,611	0,488	0,370	0,555	1					
S12	0,481	0,477	0,574	0,619	0,622	0,462	0,669	0,587	0,453	0,543	0,639	1				
S13	0,692	0,809	0,815	0,718	0,421	0,156	0,757	0,657	0,744	0,674	0,460	0,673	1			
S14	0,314	0,801	0,740	0,563	0,433	0,090	0,905	0,781	0,839	0,812	0,686	0,725	0,846	1		
S15	0,570	0,664	0,624	0,681	0,578	-0,09	0,780	0,545	0,473	0,649	0,699	0,794	0,772	0,807	1	

□ Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela XIV verificou-se que a generalidade das correlações entre lotes apresentou valores positivos (à excepção da correlação entre S6 e S15 que manifesta um valor muito próximo de zero sendo a correlação mais fraca identificada), mas bastante variáveis, destacando-se a correlação entre S5 e S6 por apresentar o menor valor positivo (0,105). A generalidade dos resultados obtidos foram bastante inferiores aos resultados verificados no óleo de girassol, o que significa que a evolução do índice de peróxidos de cada lote, ao longo dos 18 meses, é bastante variável. Considerando apenas coeficientes de correlação entre lotes diferentes, apenas 2,9 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice de peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 23 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80, ou seja, 77 % das correlações entre lotes são significativamente diferentes com o mesmo nível de significância. Esta variabilidade entre lotes poderá estar relacionada com as características intrínsecas de cada lote de óleo, nomeadamente, dos perfis de ácidos gordos, das condições de refinação, ou, eventualmente, devido às inadequadas condições de armazenamento das amostras durante todo o período de análise.

Com o objectivo de melhorar o ajustamento dos pontos à curva polinomial, ou seja, melhorar o coeficiente de determinação associado a cada lote, bem como, melhorar as correlações entre lotes, a partir do intervalo definido pelo desvio-padrão calculado anteriormente, identificou-se os índices de peróxidos que não se enquadravam no respectivo mês de análise e excluíram-se esses valores do estudo. De forma a verificar as alterações ocorridas na correlação entre os diferentes lotes, determinou-se, novamente, o coeficiente de correlação associado (tabela XV).

**Tabela XV** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a exclusão de índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 1\sigma$ ).

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1														
S2	0,512	1													
S3	0,730	0,863	1												
S4	0,861	0,826	0,917	1											
S5	0,009	0,715	0,730	0,796	1										
S6	1	0,665	0,703	0,648	-0,918	1									

S7	0,423	0,911	0,857	0,841	0,739	0,892	1									
S8	0,179	0,896	0,822	0,906	0,489	0,510	0,906	1								
S9	0,626	0,860	0,921	0,857	0,905	0,974	0,945	0,959	1							
S10	0,017	0,867	0,846	0,743	0,613	-0,070	0,954	0,939	0,846	1						
S11	0,510	0,907	0,866	0,828	0,886	1	0,928	0,928	0,973	0,782	1					
S12	0,772	0,604	0,631	0,721	0,665	0,859	0,728	0,301	0,959	0,373	0,944	1				
S13	0,973	0,827	0,879	0,864	0,974	0,908	0,770	0,874	0,717	0,746	0,439	0,701	1			
S14	0,661	0,821	0,774	0,659	0,548	0,880	0,891	0,853	0,920	0,647	0,973	0,731	0,907	1		
S15	-0,465	0,871	0,365	0,405	0,303	1	0,962	0,971	0,888	0,920	0,379	0,714	0,472	0,987	1	

□ Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela XV verificou-se que as correlações entre lotes apresentaram uma melhoria significativa, destacando-se três correlações perfeitamente positivas (entre S1 e S6; S6 e S11; S6 e S15).

Após a eliminação dos índices de peróxidos, com base no intervalo definido na tabela XII, a correlação mais fraca identificada (entre S6 e S10) apresentou um valor -0,070. Considerando apenas coeficientes de correlação positivos entre lotes diferentes, cerca de 29 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice de peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 55 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80.

Seguindo o raciocínio feito para o óleo de girassol, definiu-se um novo intervalo de valores, subtraindo e somando duas vezes o desvio-padrão, para obter o mínimo e o máximo, respectivamente, do novo intervalo. Posteriormente, identificou-se os índices de peróxidos que não se enquadravam no novo intervalo definido e excluíram-se esses valores do estudo. De forma a verificar as alterações ocorridas na correlação entre os diferentes lotes, determinou-se, novamente, o coeficiente de correlação associado (tabela XVI).

**Tabela XVI** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a exclusão de índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 2\sigma$ ).

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1														
S2	0,539	1													
S3	0,640	0,858	1												
S4	0,799	0,779	0,897	1											
S5	0,715	0,673	0,803	0,841	1										
S6	0,280	0,611	0,661	0,674	0,406	1									
S7	0,431	0,804	0,807	0,657	0,803	0,578	1								
S8	0,339	0,763	0,876	0,709	0,638	0,799	0,881	1							
S9	0,282	0,859	0,870	0,608	0,573	0,619	0,812	0,866	1						

S10	0,422	0,870	0,863	0,730	0,701	0,692	0,953	0,930	0,859	1							
S11	0,529	0,764	0,744	0,778	0,913	0,661	0,713	0,616	0,615	0,655	1						
S12	0,481	0,477	0,574	0,619	0,752	0,670	0,669	0,587	0,453	0,543	0,831	1					
S13	0,692	0,809	0,815	0,718	0,803	0,436	0,757	0,657	0,744	0,674	0,789	0,673	1				
S14	0,314	0,801	0,740	0,563	0,732	0,566	0,905	0,781	0,839	0,812	0,826	0,725	0,846	1			
S15	0,570	0,664	0,624	0,681	0,883	0,344	0,780	0,545	0,473	0,649	0,902	0,794	0,772	0,807	1		

□ Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela XVI verificou-se que as correlações entre lotes apresentaram uma ligeira melhoria comparativamente aos resultados obtidos na tabela XIV. Neste caso, a correlação mais baixa identificada corresponde à correlação entre S1 e S6 (0,280), assumindo um valor superior ao identificado na tabela XIV e XV. Considerando apenas coeficientes de correlação entre lotes diferentes, cerca de 4,8 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice de peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 33 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80.

Relativamente aos coeficientes de determinação, é possível verificar as alterações ocorridas na tabela seguinte (tabela XVII), onde a coluna A considera a totalidade dos índices de peróxidos ao longo dos 18 meses, a coluna B considera a exclusão dos índices de peróxidos que não se encontram dentro do intervalo definido por  $\pm 1\sigma$  e a coluna C considera a exclusão dos índices de peróxidos que não se encontram dentro do intervalo definido por  $\pm 2\sigma$ .

**Tabela XVII** – Comparação dos coeficientes de determinação de cada lote de óleo de soja.

Lotes	Coeficientes de determinação ( $R^2$ )		
	A	B	C
S1	0,492	0,327	0,378
S2	0,808	0,814	0,745
S3	0,755	0,807	0,807
S4	0,634	0,854	0,743
S5	0,790	0,803	0,856
S6	0,415	0,984	0,937
S7	0,670	0,932	0,808
S8	0,810	0,659	0,755
S9	0,792	0,952	0,634
S10	0,826	0,780	0,790
S11	0,378	0,922	0,852
S12	0,745	0,714	0,670
S13	0,807	0,600	0,810
S14	0,743	0,788	0,792
S15	0,579	0,774	0,826

Comparando a coluna A com a B e C, verifica-se uma melhoria na generalidade dos coeficientes de determinação de cada lote (à excepção dos lotes S1, S8, S10, S12 e S13) o que sugere que os índices de peróxidos fora dos intervalos definidos influenciam significativamente os resultados. Relativamente às colunas B e C, a generalidade dos lotes apresentou uma ligeira melhoria na coluna B, uma vez que o intervalo definido era mais apertado, o que implicou a exclusão de um maior número de valores. No entanto, verifica-se que cerca de 60 % dos coeficientes de determinação obtidos com um intervalo de valores definido por  $\pm 2\sigma$  em torno da média apresentaram um valor superior a 0,80, e apenas o lote S6 apresentou um valor superior a 0,90, o que sugere um ajustamento mais fraco dos índices de peróxidos à curva polinomial ao longo dos 18 meses, quando comparado com o óleo de girassol.

Com o intuito de avaliar de forma mais abrangente a evolução dos compostos da oxidação, quer primários como secundários, efectuou-se a determinação dos coeficientes de extinção por espectrofotometria no ultravioleta a dois comprimentos de onda distintos: 230 e 270 nm. Esta análise foi efectuada em dez lotes do mesmo óleo, com uma periodicidade de 2 meses, iniciando-se no mês de produção e embalamento do mesmo. Os resultados obtidos estão registados na tabela II no anexo III. Posteriormente, calculou-se a média dos coeficientes de extinção nos 230 e 270 nm correspondente a cada mês de análise (tabela XVIII). Com o objectivo de obter um intervalo de valores representativo de cada mês de análise, determinou-se o desvio-padrão e, por conseguinte, o intervalo de valores associado (tabela XVIII).

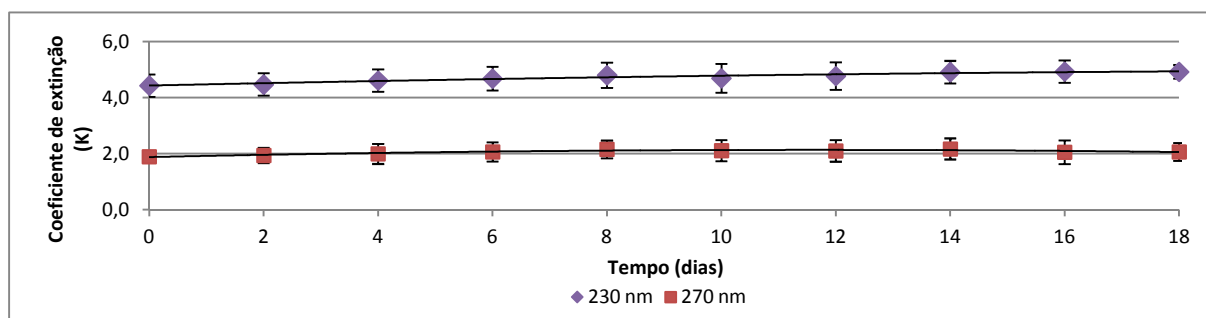
**Tabela XVIII** – Determinação da média e do desvio-padrão dos coeficientes de extinção (K) nos 230 e 270 nm para cada mês de análise do óleo de soja.

Mês de análise	$\lambda$ (nm)	K médio (nm)	Desvio-padrão
0	230 nm	4,4	0,4
	270 nm	1,9	0,2
2	230 nm	4,5	0,4
	270 nm	1,9	0,3
4	230 nm	4,6	0,4
	270 nm	2,0	0,4
6	230 nm	4,7	0,4
	270 nm	2,1	0,3
8	230 nm	4,8	0,5
	270 nm	2,2	0,3
10	230 nm	4,7	0,5
	270 nm	2,1	0,4
12	230 nm	4,8	0,5
	270 nm	2,1	0,4
14	230 nm	4,9	0,4
	270 nm	2,2	0,4



16	230 nm	4,9	0,4
	270 nm	2,1	0,4
18	230 nm	4,9	0,2
	270 nm	2,1	0,3

Após a determinação da média mensal e do respectivo desvio padrão obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 12):



**Figura 12** – Evolução dos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 230 e 270 nm e do respectivo erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado, para o óleo de soja

Pela análise da figura 12 verifica-se uma evolução média crescente ao longo dos 18 meses de vida útil do óleo relativamente ao coeficiente de extinção no comprimento de onda 230 nm (peróxidos). Os compostos secundários de oxidação (trienos conjugados) não apresentaram grandes variações, constatando-se um acréscimo muito mais ligeiro. Estes resultados determinam que estamos, ainda, perante a fase de produção de compostos primários da oxidação. Este resultado é compatível com a evolução do índice de peróxidos obtida no mesmo período de análise, representada na figura 11.

A evolução média dos compostos primários da oxidação ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação de 0,9235 e definida pela seguinte equação:

$$y = -0,0009x^2 + 0,044x + 4,4254$$

Substituindo a variável independente (x) por valores superiores aos avaliados neste ensaio, é possível prever o nível máximo de compostos primários da oxidação que o óleo de soja atinge à temperatura ambiente (tabela XIX).

**Tabela XIX** – Previsão média mensal dos compostos primários da oxidação de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio.

Tempo (meses)	Coeficientes de extinção (230 nm)
20	4,9454
22	4,9578
24	4,9630

25	4,9629
26	4,9610

Tendo em conta que estes resultados são meramente indicativos, assume-se o mês 24 como o máximo da reacção. No entanto, o mês 22 apresenta um valor bastante próximo ao assumido no mês 24, o que sugere alguma concordância relativamente à previsão efectuada ao índice de peróxidos do mesmo óleo (tabela XIII).

A acidez do óleo de soja foi também avaliada ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, iniciando-se no mês de produção e embalamento do mesmo. Os resultados obtidos relativos à evolução da acidez referente a cada um dos lotes podem ser consultados na tabela III e estão representados graficamente na figura 2 no anexo III.

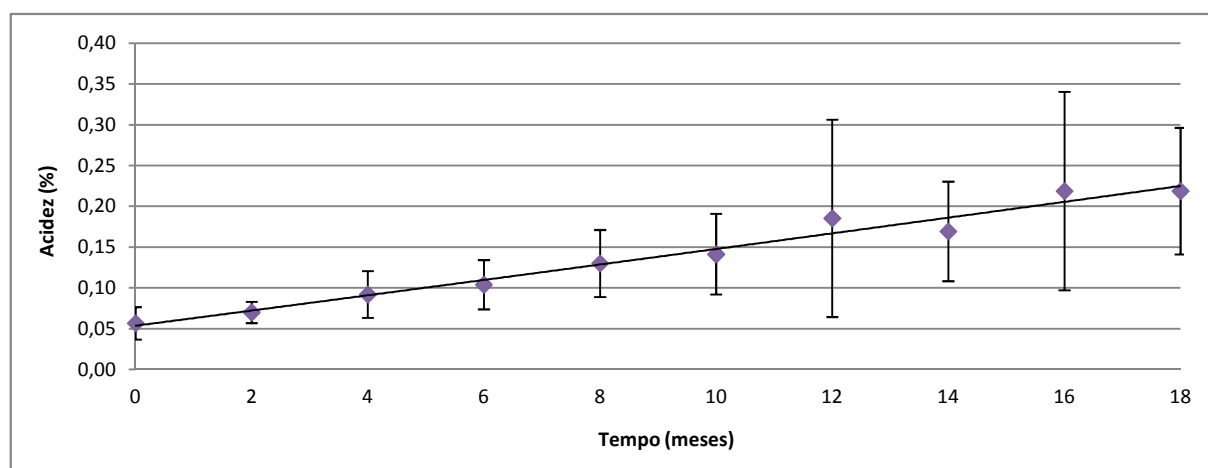
Posteriormente, calculou-se a acidez média correspondente a cada mês de análise (tabela XX).

Com o objectivo de obter um intervalo de valores representativo de cada mês de análise, determinou-se o desvio-padrão e, por conseguinte, o intervalo de valores associado (tabela XX).

**Tabela XX** – Determinação da média e do desvio-padrão da acidez para cada mês de análise do óleo de soja.

Mês de análise	Média (%)	Desvio-padrão
0	0,06	0,02
2	0,07	0,01
4	0,09	0,03
6	0,10	0,03
8	0,13	0,04
10	0,14	0,05
12	0,19	0,12
14	0,17	0,06
16	0,22	0,12
18	0,22	0,08

Após a determinação da média mensal e do respectivo desvio padrão obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 13):



**Figura 13** – Evolução média da acidez de 15 lotes de óleo de soja e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise.

Pela análise da figura 13 verifica-se uma evolução média crescente ao longo dos 18 meses de vida útil do óleo.

A evolução média da acidez ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação de 0,9699.

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, os 15 lotes foram avaliados e classificados em termos de aroma e sabor.

Os resultados obtidos podem ser consultados na tabela IV no anexo III. Posteriormente, calculou-se a moda correspondente a cada mês de análise (tabela XXI).

**Tabela XXI** – Evolução da moda das classificações do aroma e do sabor do óleo de soja.

Moda	Mês de análise									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Aroma	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
Sabor	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2

Pela análise da tabela XXI, verifica-se uma evolução modal semelhante no aroma e no sabor, à excepção do 16º mês de análise.

A evolução destes dois parâmetros sugere que este óleo apresenta uma boa apreciação até ao 14º mês, uma vez que o aroma e o sabor a semente perceptível que surge desde o primeiro mês de análise, é um aspecto característico deste óleo. No 16º mês surge o aroma a ranço e dois meses

depois o óleo já apresenta um aroma e um sabor a ranço acentuado, o que determina uma formação crescente de compostos secundários de oxidação.

O óleo de soja apresenta um teor de ácidos gordos polinsaturados inferior ao óleo de girassol e um teor de antioxidantes naturais bastante superior. Neste sentido, é um óleo mais resistente à oxidação.

Sabendo a composição de ambos os óleos, esperava-se que o óleo de soja garantisse uma classificação, em termos de aroma e sabor, superior durante mais tempo, ou seja, que o aroma e o sabor a ranço acentuado surgissem após os 18 meses. No entanto, a presença de contaminantes do óleo cru é bastante variável o que poderá reflectir-se no produto final.

### 1.3.3. Óleo de amendoim

Os resultados obtidos relativos à evolução do índice de peróxidos referente a cada um dos lotes podem ser consultados na tabela I e estão representados graficamente na figura 1 no anexo IV.

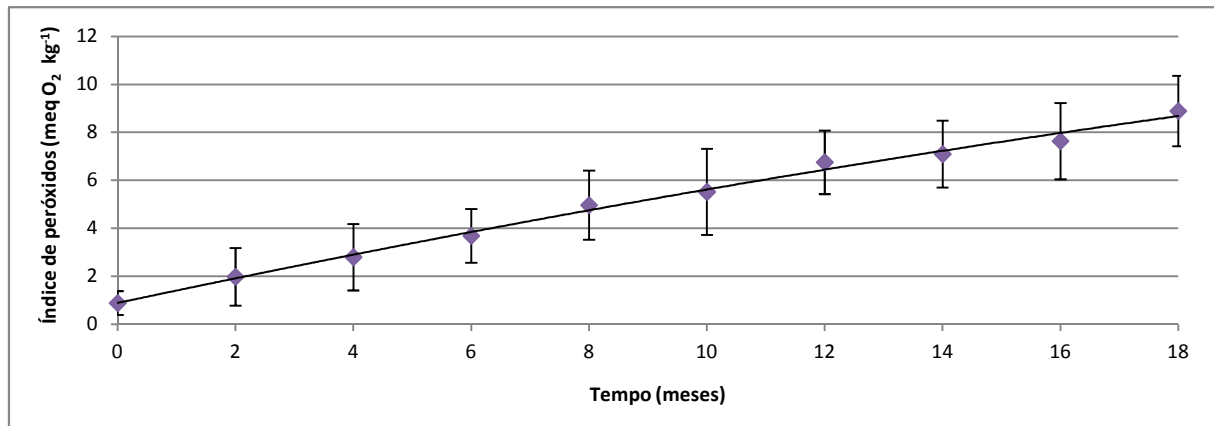
Posteriormente, calculou-se o índice de peróxidos médio correspondente a cada mês de análise (tabela XXII).

Com o objectivo de obter um intervalo de valores representativo de cada mês de análise, determinou-se o desvio-padrão e, por conseguinte, o intervalo de valores associado (tabela XXII).

**Tabela XXII** – Determinação da média e do desvio-padrão do índice de peróxidos para cada mês de análise do óleo de amendoim.

Mês de análise	Média (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Desvio-padrão
0	0,89	0,50
2	1,98	1,20
4	2,80	1,39
6	3,69	1,12
8	4,97	1,44
10	5,52	1,79
12	6,76	1,33
14	7,10	1,39
16	7,64	1,59
18	8,89	1,47

Após a determinação da média mensal e do respectivo desvio padrão obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 14):



**Figura 14** – Evolução média do índice de peróxidos de 10 lotes de óleo de amendoim e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise.

Pela análise da figura 14 verifica-se uma evolução média crescente ao longo dos 18 meses de vida útil do óleo. Estes resultados determinam que estamos, ainda, perante a fase de produção de compostos primários da oxidação.

Comparado este resultado com a evolução média do índice de peróxidos do óleo de girassol e do óleo de soja, verifica-se que, a tendência evolutiva é semelhante nos três tipos de óleo. Apesar do óleo de girassol e o óleo de soja revelarem um índice de peróxidos ligeiramente superior no mês de embalagem do produto, apresentam, também, um índice muito inferior no último mês de análise, sendo esta diferença mais expressiva quando o presente óleo é comparado com o óleo de soja. Este facto poderá estar relacionado com a composição de cada um dos óleos: o óleo de amendoim apresenta um grau de insaturação ligeiramente inferior ao óleo de soja e ao óleo de girassol, por ser constituído por uma percentagem ligeiramente inferior de ácidos gordos polinsaturados e uma percentagem ligeiramente superior de ácidos gordos monoinsaturados e saturados, podendo traduzir-se numa susceptibilidade à oxidação ligeiramente inferior. Por outro lado, o teor de antioxidantes naturais é inferior aos óleos de girassol e de soja sendo esta diferença mais expressiva quando o óleo de amendoim é comparado com o óleo de soja. A diferença inicial verificada no índice de peróxidos do óleo de amendoim comparativamente ao óleo de girassol e óleo de soja (ligeiramente inferior no óleo de amendoim) poderá também ser relacionada com o teor de compostos oxidáveis presentes em cada um dos óleos. O óleo de amendoim apresenta um teor de esteróis inferior ao óleo de girassol e de soja, o que poderá influenciar o índice de peróxidos obtido.

A evolução média do índice de peróxidos ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação de 0,994 e definida pela seguinte equação:

$$y = -0,005x^2 + 0,5231x + 0,8849$$

Substituindo a variável independente (x) por valores superiores aos avaliados neste ensaio, é possível prever o índice máximo de peróxidos que o óleo de amendoim atinge à temperatura ambiente (tabela XXIII).

**Tabela XXIII** – Previsão média mensal do índice de peróxidos representativo de alguns meses que precedem o último mês de análise abrangido pelo presente ensaio.


Tempo (meses)	Índice de Peróxidos (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
20	9,347
22	9,973
26	11,106
36	13,237
46	14,368
48	14,474
50	14,540
52	14,566
53	14,564

Tendo em conta que estes resultados são meramente indicativos, assume-se o mês 52 como o máximo da reacção, por apresentar o índice de peróxidos mais elevado, a partir do qual, se verifica uma redução gradual do mesmo. Este resultado evidencia uma fase de produção de compostos primários da oxidação muito superior aos óleos de girassol e óleo de soja.

Com o objectivo de estudar a variabilidade entre lotes, determinou-se os coeficientes de correlação de Pearson, apresentados na tabela seguinte (tabela XXIV).

**Tabela XXIV** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes ( $\pm 1\sigma$ ), do óleo de amendoim.

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
A1	1									
A2	0,890	1								
A3	0,810	0,880	1							
A4	0,924	0,964	0,893	1						
A5	0,881	0,848	0,702	0,921	1					
A6	0,872	0,878	0,963	0,890	0,713	1				
A7	0,837	0,838	0,684	0,838	0,918	0,708	1			
A8	0,794	0,680	0,661	0,744	0,725	0,761	0,743	1		
A9	0,786	0,891	0,895	0,901	0,746	0,867	0,638	0,470	1	
A10	0,841	0,951	0,891	0,961	0,804	0,876	0,692	0,654	0,918	1

 Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela XXIV verificou-se que a totalidade das correlações entre lotes apresentou valores positivos, destacando-se a correlação entre A8 e A9 por apresentar o menor valor (0,470).

Considerando apenas coeficientes de correlação entre lotes diferentes, apenas 20 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice de peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 62 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80.

Com o objectivo de melhorar o ajustamento dos pontos à curva polinomial, ou seja, melhorar o coeficiente de determinação associado a cada lote, bem como, melhorar as correlações entre lotes, a partir do intervalo definido pelo desvio-padrão calculado anteriormente, identificou-se os índices de peróxidos que não se enquadravam no respectivo mês de análise e excluíram-se esses valores do estudo.

De forma a verificar as alterações ocorridas na correlação entre os diferentes lotes, determinou-se, novamente, o coeficiente de correlação associado (tabela XXV).

**Tabela XXV** – Determinação do coeficiente de correlação de Pearson entre lotes, após a exclusão de índices de peróxidos fora do intervalo definido ( $\pm 1\sigma$ ).

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
A1	1									
A2	0,871	1								
A3	0,832	0,964	1							
A4	0,962	0,956	0,984	1						
A5	0,999	0,955	0,901	0,948	1					
A6	0,851	0,920	0,970	0,926	0,930	1				
A7	0,795	0,905	0,898	0,938	0,820	0,894	1			
A8	0,291	0,723	0,903	0,830	0,729	0,249	0,989	1		
A9	0,978	0,966	0,964	0,984	0,990	0,957	0,952	0,657	1	
A10	0,939	0,947	0,990	0,979	0,950	0,939	0,966	0,601	0,997	1

☐ Lotes significativamente semelhantes, a um nível de significância de 0,10

Pela análise da tabela XXV verificou-se que as correlações entre lotes apresentaram uma melhoria significativa. Após a eliminação dos índices de peróxidos, com base no intervalo definido na tabela XXII, a correlação mais fraca identificada (entre A6 e A8) apresentou um valor 0,249. Considerando apenas coeficientes de correlação positivos entre lotes diferentes, cerca de 69 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,90. Estes lotes são significativamente semelhantes, relativamente à evolução do índice de peróxidos ao longo de 18 meses, a um nível de significância de 0,10. Ponderando um nível de significância superior (0,20), cerca de 87 % das correlações efectuadas apresentaram um coeficiente superior a 0,80, o que pressupõe um bom ajustamento dos lotes à curva tendência definida.

De forma a minimizar a exclusão de valores definiu-se um novo intervalo de valores, subtraindo e somando duas vezes o desvio-padrão, para obter o mínimo e o máximo, respectivamente, do novo intervalo.

Após a definição do intervalo verificou-se que nenhum valor seria excluído, não surgindo alterações nas correlações entre lotes. Neste sentido, as correlações entre lotes obtidas seriam as mesmas da tabela XXIV. Este resultado pressupõe uma variabilidade entre lotes muito mais reduzida que a verificada no óleo de girassol e óleo de soja o que evidencia, também, a elevada estabilidade deste óleo face aos anteriores.

Relativamente aos coeficientes de determinação, é possível verificar as alterações ocorridas na tabela seguinte (tabela XXVI), onde a coluna A considera a totalidade dos índices de peróxidos ao longo dos 18 meses, a coluna B considera a exclusão dos índices de peróxidos que não se encontram dentro do intervalo definido por  $\pm 1\sigma$  e a coluna C considera a exclusão dos índices de peróxidos que não se encontram dentro do intervalo definido por  $\pm 2\sigma$ .

**Tabela XXVI** – Comparação dos coeficientes de determinação de cada lote de óleo de amendoim.

Lotes	Coeficientes de determinação ( $R^2$ )		
	A	B	C
A1	0,860	0,874	0,860
A2	0,956	0,951	0,956
A3	0,877	0,968	0,877
A4	0,979	0,993	0,979
A5	0,789	0,912	0,789
A6	0,877	0,876	0,877
A7	0,721	0,887	0,721
A8	0,915	0,966	0,915
A9	0,946	0,984	0,946
A10	0,919	0,968	0,919

Pela análise da tabela anterior verifica-se que não surgiram alterações nos coeficientes de determinação da coluna A e C, uma vez que, após a definição do intervalo definido por  $\pm 2\sigma$  verificou-se que nenhum valor seria excluído. Comparando a coluna A com a B, verifica-se uma melhoria na generalidade dos coeficientes de determinação de cada lote (à excepção dos lotes A2 e A6 onde se verificou uma redução ínfima) o que sugere que os índices de peróxidos fora dos intervalos definidos influenciam significativamente os resultados. Este resultado surgiu de forma mais acentuada nos lotes A5 e A7. Considerando a totalidade dos índices de peróxidos de cada um dos lotes ao longo dos 18 meses, verificou-se que apenas 2 lotes apresentam um coeficiente de determinação inferior a 0,80 e metade dos lotes estudados apresentam um coeficiente de determinação superior a 0,90. Este



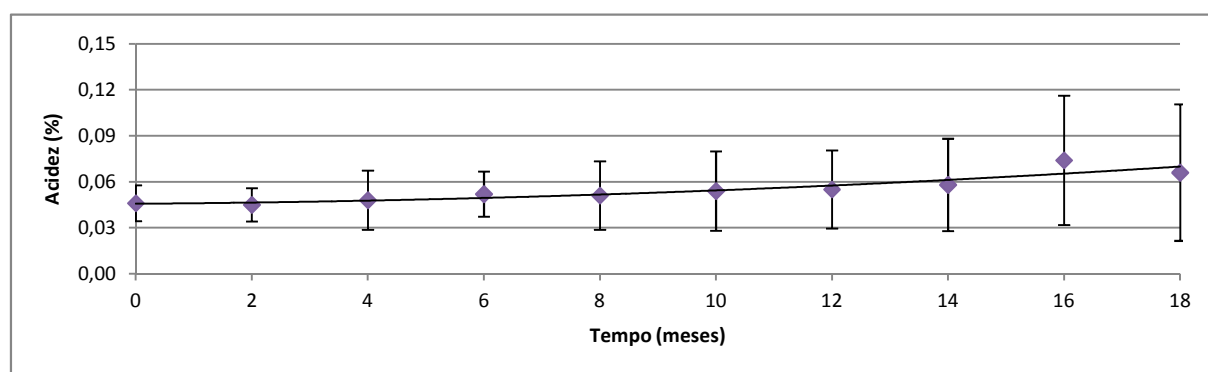
resultado sugere um ajustamento à curva polinomial bastante razoável o que evidencia uma estabilidade superior, face ao restantes óleos avaliados neste ensaio, essencialmente quando comparado com óleo de soja.

A acidez do óleo de amendoim foi também avaliada ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, iniciando-se no mês de produção e embalamento do mesmo. Os resultados obtidos relativos à evolução da acidez referente a cada um dos lotes estão registados na tabela II e representados graficamente na figura 2 no anexo IV. Posteriormente, calculou-se a acidez média correspondente a cada mês de análise (tabela XXVII). Com o objectivo de obter um intervalo de valores representativo de cada mês de análise, determinou-se o desvio-padrão e, por conseguinte, o intervalo de valores associado (tabela XXVII).

**Tabela XXVII** – Determinação da média e do desvio-padrão da acidez para cada mês de análise do óleo de amendoim.

Mês de análise	Média (%)	Desvio-padrão
0	0,05	0,01
2	0,05	0,01
4	0,05	0,02
6	0,05	0,01
8	0,05	0,02
10	0,05	0,03
12	0,06	0,03
14	0,06	0,03
16	0,07	0,04
18	0,07	0,04

Após a determinação da média mensal e do respectivo desvio padrão obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 15):



**Figura 15** – Evolução média da acidez de 10 lotes de óleo de amendoim e representação do erro padrão ( $\pm 1\sigma$ ) associado a cada mês de análise.

A evolução média da acidez ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação de 0,8437. Pela análise da figura 15 verifica-se uma evolução média crescente ao longo dos 18 meses de vida útil do óleo. Comparando estes resultados com a evolução da acidez obtida no óleo de soja, verificou-se que no presente óleo a acidez correspondente ao primeiro e último mês de análise foi inferior, o que sugere uma evolução substancialmente mais lenta, face ao óleo de soja.

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, os 10 lotes foram avaliados e classificados em termos de aroma e sabor.

Os resultados obtidos encontram-se registados na tabela III no anexo IV. Posteriormente, calculou-se a moda correspondente a cada mês de análise (tabela XXVIII).

**Tabela XXVIII** – Evolução da moda das classificações do aroma e do sabor do óleo de amendoim.

Moda	Mês de análise									
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
Aroma	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3 <sup>(a)</sup>
Sabor	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3 <sup>(a)</sup>

(a) Relativamente à moda do aroma e do sabor obtida a partir de 10 lotes de óleo de amendoim armazenados 18 meses à temperatura ambiente, 5 lotes apresentaram a classificação 3 e os restantes a classificação 2.

Pela análise da tabela XXVIII, verifica-se uma evolução da moda das classificações do aroma e do sabor semelhantes. A evolução destes dois parâmetros sugere que este óleo apresenta uma boa apreciação até ao 18º mês, na generalidade dos lotes.

#### 1.4. Conclusões intercalares

Este ensaio permitiu ter a percepção da evolução oxidativa registada ao longo de 18 meses à temperatura ambiente e a consequente alteração na qualidade organoléptica dos óleos avaliados e irá permitir efectuar eventuais comparações e extrapolações com os ensaios posteriores.

A tabela seguinte (tabela XXIX) apresenta um resumo dos diversos parâmetros avaliados nos óleos de girassol, de soja e de amendoim refinados, ao longo dos 18 meses.

**Tabela XXIX** – Resumo dos diversos parâmetros avaliados em cada óleo refinado ao longo dos 18 meses.

Óleo de girassol refinado		
Índice de peróxidos médio (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Equação da função	$y = -0,0129x^2 + 0,5548x + 1,0477$
	Coefficiente de determinação	$R^2 = 0,9958$
	Máximo da função (x ; y)	(22 ; 6,99)
	Mínimo da função (x ; y)	(0 ; 1,15)
	x = 18 meses	y = 6,84 meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup>
Aroma (moda)	Classificação obtida aos 18 meses	3
Sabor (moda)	Classificação obtida aos 18 meses	3
Óleo de soja refinado		
Índice de peróxidos médio (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Equação da função	$y = -0,0092x^2 + 0,3885x + 1,2212$
	Coefficiente de determinação	$R^2 = 0,9673$
	Máximo da função (x ; y)	(22 ; 5,32)
	Mínimo da função (x ; y)	(0 ; 0,94)
	x = 18 meses	y = 5,23 meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup>
Absorvância média (230 nm)	Equação da função	$y = -0,0009x^2 + 0,044x + 4,4254$
	Coefficiente de determinação	$R^2 = 0,9235$
	Máximo da função (x ; y)	(24 ; 4,9630)
	Mínimo da função (x ; y)	(0 ; 4,4)
	x = 18 meses	y = 4,9200 nm
Acidez média (%)	Equação da função	$y = 1 \times 10^{-5}x^2 + 0,0093x + 0,0536$
	Coefficiente de determinação	$R^2 = 0,9699$
	Mínimo da função (x ; y)	(0 ; 0,06)
	x = 18 meses	y = 0,22 %
Aroma (moda)	Classificação obtida aos 18 meses	2 (o aroma acentuado a ranço surge aos 16 meses)
Sabor (moda)	Classificação obtida aos 18 meses	2
Óleo de amendoim refinado		
Índice de peróxidos médio (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	Equação da função	$y = -0,005x^2 + 0,5231x + 0,8849$
	Coefficiente de determinação	$R^2 = 0,994$
	Máximo da função (x ; y)	(52 ; 14,566)
	Mínimo da função (x ; y)	(0 ; 0,89)
	x = 18 meses	y = 8,89 meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup>
Acidez média (%)	Equação da função	$y = 6 \times 10^{-5}x^2 + 0,0003x + 0,0456$
	Coefficiente de determinação	$R^2 = 0,8437$
	Mínimo da função (x ; y)	(0 ; 0,05)
	x = 18 meses	y = 0,07 %
Aroma (moda)	Classificação obtida aos 18 meses	3 <sup>(a)</sup>
Sabor (moda)	Classificação obtida aos 18 meses	3 <sup>(a)</sup>

(a) Relativamente à moda do aroma e do sabor obtida a partir de 10 lotes de óleo de amendoim armazenados 18 meses à temperatura ambiente, 5 lotes apresentaram a classificação 3 e os restantes a classificação 2.

Segundo SMITH, KING e MIN (2006), à medida que o tempo de armazenamento aumenta, espera-se que a taxa de formação de peróxidos seja inferior à taxa de decomposição dos mesmos, traduzindo-se num decréscimo do índice de peróxidos. Este facto realça a necessidade de usar indicadores

auxiliares para avaliar efectivamente a qualidade de um óleo durante o seu armazenamento prolongado, como a determinação de compostos secundários da oxidação, avaliações organolépticas, determinação da acidez, entre outros. No entanto, verificou-se que 18 meses à temperatura ambiente não foram suficientes para observar a inversão da tendência crescente nos diversos óleos, ou seja, ao longo dos 18 meses a taxa de formação de peróxidos foi superior à taxa de decomposição dos mesmos.

Relativamente à acidez, verificou-se uma evolução igualmente crescente em ambos os óleos onde este parâmetro foi avaliado, embora, de forma mais significativa no óleo de soja. A avaliação organoléptica efectuada mostrou que o óleo de girassol adquiriu a melhor classificação ao longo do período de análise, seguindo-se o óleo de amendoim. No entanto, a composição em ácidos gordos, antioxidantes (óleo com o maior teor de tocoferóis, nomeadamente o  $\gamma$ -tocoferol) e o baixo índice médio de peróxidos obtido no óleo de soja no último mês de análise sugeria uma classificação organoléptica mais favorável à efectivamente obtida. Tendo em conta a composição dos óleos avaliados, esperava-se que o óleo de amendoim garantisse uma classificação, em termos de aroma e sabor, superior durante mais tempo, ou seja, que o aroma e o sabor a ranço acentuado surgissem após os 18 meses. No entanto, verificou-se que no óleo de girassol, após 18 meses, a moda do aroma e do sabor obtida foi superior (classificação 3) à do óleo de amendoim. No óleo de soja os sinais de ranço acentuado surgiram aos 16 meses. Com base na rastreabilidade destes óleos, sabe-se que os óleos de amendoim e de soja são provenientes de diferentes refinarias, sendo sujeitos a condições de refinação, transportes e descargas diversos. Este facto poderá influenciar o tempo de estabilidade, bem como, as características organolépticas destes óleos, face ao óleo de girassol.

Segundo SMITH, KING e MIN (2006), os óleos que apresentam um elevado teor de ácido linoleico e linolénico, como é o caso do óleo de girassol e de soja, respectivamente, apresentam uma estabilidade oxidativa inferior, uma vez que estes ácidos gordos exibem uma taxa de oxidação 12 a 25 vezes superior à do ácido oleico que se encontra em maior quantidade no óleo de amendoim. No entanto, à temperatura ambiente, verificou-se que o óleo de girassol (constituído essencialmente por óleo de girassol) apresentou uma estabilidade oxidativa superior, seguindo-se o óleo de amendoim (18 meses) e posteriormente o óleo de soja (16 meses). Este resultado poderá ter sido influenciado pelas razões apontadas anteriormente (proveniência de cada óleo refinado, condições de refinação, transportes e descargas diversas).

Com o intuito de validar os resultados obtidos seria necessário analisar em detalhe os resultados e fazer a rastreabilidade a lotes, diferenciando lotes com base na sua proveniência (refinaria), nas condições de refinação e tendo em conta o perfil de ácidos gordos de cada óleo.

## **II. 2. Ensaio 2 – Estudo do envelhecimento acelerado em estufa nos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub>**

### **2.1. Objectivos**

Com o intuito de prever o tempo de vida útil dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> refinados foi necessário acelerar o processo de oxidação de forma a promover o envelhecimento acelerado dos mesmos. Neste sentido, diversas amostras foram submetidas a um ensaio em estufa.

### **2.2. Definição/optimização das condições de ensaio**

Inicialmente, foi necessário estabelecer as condições do ensaio, nomeadamente, a temperatura a aplicar, o tempo de permanência das amostras na estufa e a periodicidade de recolha das mesmas para posterior análise. As diversas amostras foram mantidas na embalagem original e devidamente capsuladas.

### **2.3. Experiência 1**

Sabendo que, quanto mais próximas da realidade forem as condições estabelecidas, maior será a semelhança do processo oxidativo do teste de envelhecimento forçado, comparativamente, ao processo oxidativo à temperatura ambiente, definiu-se primeiramente uma temperatura de 42 °C.

Sabendo que, o óleo de girassol apresenta uma validade pré-estabelecida de 12 meses, pretende-se atingir o índice de peróxidos equivalente aos 12 meses à temperatura ambiente (4,42 – 7,32 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>). Inicialmente, os tempos de permanência estabelecidos para a temperatura de 42 °C foram os seguintes: 1, 3, 7, 10, 14, 21, 28 e 40 dias.

No entanto, aos 21 dias as amostras apresentavam um índice médio de peróxidos bastante baixo (aproximadamente 2,65 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) e uma tendência evolutiva bastante demorada, concluindo-se que seria necessário alargar o período de ensaio. Verificou-se que o índice de peróxidos obtido após 14 e 21 dias era equivalente ao segundo mês à temperatura ambiente. Sabendo que foram necessários 14 dias para se atingir índices de peróxidos equivalentes ao segundo mês à temperatura ambiente, aos 28 dias teríamos eventualmente índices de peróxidos equivalentes ao quarto mês, aos 42 dias um valor equivalente ao sexto mês, e assim sucessivamente. Deste raciocínio, concluiu-se que seriam necessários 84 dias de permanência à temperatura de 42 °C. Esta correspondência com a temperatura ambiente foi efectuada com base no intervalo de valores definido por  $\pm 1\sigma$  para cada mês de análise, descrito no ensaio 1 (tabela IV).

Dado o longo período de análise e o número de amostras limitada de óleo de girassol (pertencentes ao mesmo lote e recolhidas à data de produção e embalagem), foi necessário reformular a periodicidade de recolha das amostras da estufa, a partir dos 21 dias de permanência: 35, 49, 70, 77 e 84 dias, com uma repetibilidade de 2 amostras, à excepção das duas últimas determinações.

Relativamente ao óleo girassol<sub>spray</sub>, as temperaturas e a periodicidade de recolha das amostras da estufa é semelhante. No entanto, dado o número de amostras limitado, algumas das determinações não serão efectuadas. À temperatura de 42 °C, apenas serão analisadas amostras com 21, 35, 42, 56 e 63 dias, sem repetibilidade de amostras.

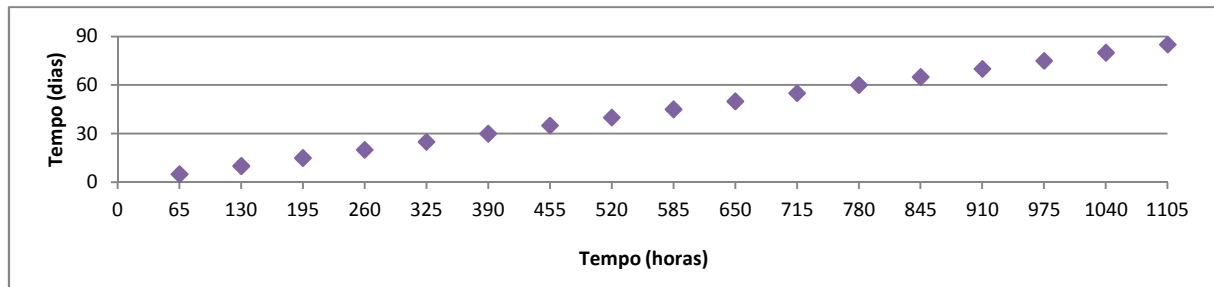
#### **2.4. Experiência 2**

Contudo, o objectivo fulcral deste estudo é conseguir determinar de forma rápida o tempo de vida útil dos óleos de girassol. Desta forma, torna-se imprescindível estabelecer condições que acelerem ainda mais o envelhecimento do óleo. Neste sentido, foram colocadas duas amostras do óleo de girassol (pertencentes ao mesmo lote e recolhidas à data de embalagem) numa estufa à temperatura de 65 °C, durante 72 horas. No entanto, devido ao aumento de volume do óleo provocado pela temperatura excessiva, as cápsulas das garrafas foram expulsas pela pressão.

#### **2.5. Experiência 3**

Os resultados da experiência 2 evidenciaram a necessidade de estabelecer uma temperatura mais baixa. Neste sentido, foram colocadas duas amostras do óleo de girassol (pertencentes ao mesmo lote e recolhidas à data de embalagem) numa estufa à temperatura de 55 °C, durante 65 horas. Uma vez que as amostras permaneceram intactas, definiu-se esta como a segunda temperatura a usar no ensaio em estufa.

Com o intuito de definir os tempos de permanência das amostras de óleo de girassol na estufa à temperatura de 55 °C, procedeu-se à determinação do índice de peróxidos das duas amostras submetidas ao teste. Após a determinação do índice de peróxidos médio ( $1,4 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ), estabeleceram-se dois raciocínios paralelos. Observando a evolução do índice de peróxidos obtida a 42 °C, verificou-se que o valor obtido a 55 °C durante 65 horas correspondia a 5 dias no ensaio anterior. Desta forma, cada acréscimo de 65 horas à temperatura de 55 °C irá corresponder a um acréscimo de 5 dias à temperatura de 42 °C (figura 16)



**Figura 16** – Previsão do tempo de permanência na estufa à temperatura de 55 °C do óleo de girassol com base na evolução do índice de peróxidos obtida a 42 °C.

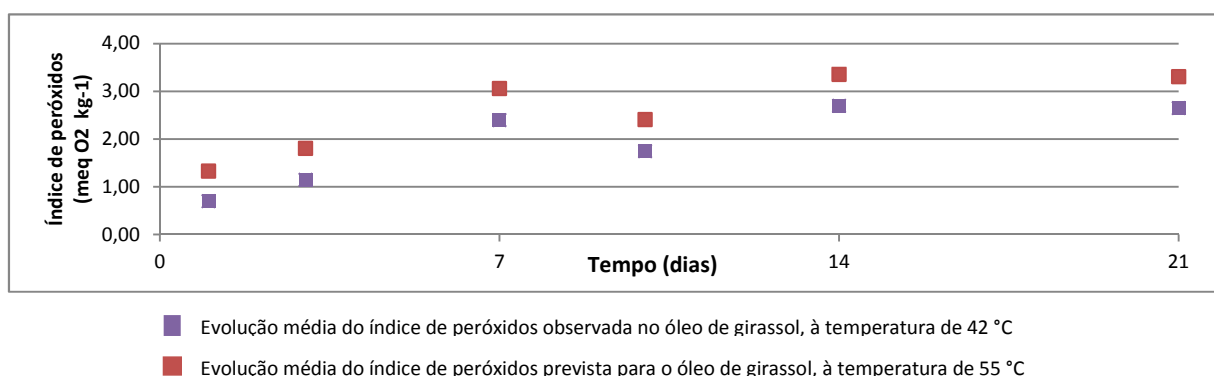
Pela análise da figura anterior é possível verificar que 80 e 85 dias à temperatura de 42 °C correspondem respectivamente a 1040 e 1105 horas à temperatura de 55 °C, ou seja, aproximadamente 43 e 46 dias, respectivamente. Neste sentido, para se atingir o índice de peróxidos médio obtido correspondente a 84 dias à temperatura de 42 °C as amostras deverão permanecer cerca de 43 a 46 dias na estufa a uma temperatura de 55 °C.

Paralelamente, através da equação representativa da curva polinomial de tendência do ensaio a 42 °C verificou-se o índice de peróxidos equivalente a 65 horas. A evolução média do índice de peróxidos registada à temperatura de 42 °C segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação de 0,9486 e definida pela seguinte equação:

$$y = 2 \times 10^{-5}x^3 - 0,0037x^2 + 0,1826x + 0,6046$$

Substituindo a variável independente (x) por 2,7 dias (65 horas) obteve-se o índice de peróxidos correspondente a 65 horas à temperatura de 42 °C (1,07 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>), com o intuito de verificar a influência do acréscimo de 13 °C (0,33 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>).

Partindo da evolução de peróxidos obtida a 42 °C até aos 21 dias, considerando que a evolução e a velocidade de oxidação entre cada determinação é semelhante e a influência do acréscimo de 13 °C (0,33 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 17).



**Figura 17** – Evolução média do índice de peróxidos ao longo de 21 dias de permanência na estufa.

Pela análise da figura anterior é possível verificar que aos 21 dias o índice de peróxidos médio previsto à temperatura de 55 °C é equivalente a 6 meses à temperatura ambiente ( $3,31 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ), ou seja, seriam necessários cerca de 42 dias para atingir um índice de peróxidos equivalente a 12 meses. Esta correspondência foi efectuada com base no intervalo de valores definido por  $\pm 1\sigma$  para cada mês de análise, descrito no ensaio 1 (tabela IV). Sabendo o tempo de permanência necessário, definiu-se a periodicidade de análise das amostras de óleo de girassol da seguinte forma: 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias, com uma repetibilidade de 2 amostras.

Relativamente ao óleo girassol<sub>spray</sub>, as temperaturas e a periodicidade de recolha das amostras da estufa é semelhante. No entanto, dado o número de amostras limitado, algumas das determinações não serão efectuadas. À temperatura de 55 °C, apenas serão analisadas amostras com 14, 21, 28, 35 e 42 dias de permanência na estufa, sem repetibilidade de amostras.

## 2.6. Experiência 4

Pretendendo-se submeter diversas amostras de óleo de girassol a uma temperatura intermédia (50 °C), realizou-se um ensaio prévio com duas amostras que permaneceram na estufa durante 7 dias. Posteriormente, verificou-se que o índice de peróxidos médio ( $2,5 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) apresentou um valor intermédio relativamente à temperatura de 42 °C ( $2,40 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) e 55 °C ( $3,06 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ). Desta forma, definiu-se um tempo máximo de permanência intermédio. A periodicidade de recolha das amostras de óleo de girassol foi definida da seguinte forma: 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias, com uma repetibilidade de 2 amostras.

Relativamente ao óleo girassol<sub>spray</sub>, as temperaturas e a periodicidade de recolha das amostras da estufa é semelhante. No entanto, dado o número de amostras limitado, algumas das determinações não serão efectuadas. À temperatura de 50 °C, apenas serão analisadas amostras com 14, 28, 35, 42, 49 e 63 dias, sem repetibilidade de amostras.

## 2.7. Estudo da evolução oxidativa nos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 42 °C

Após a definição e optimização das condições de ensaio procedeu-se ao estudo da evolução oxidativa à temperatura de 42 °C.

### 2.7.1. Metodologia experimental

O ensaio decorrido a 42 °C foi efectuado com 20 garrafas de óleo de girassol pertencentes ao mesmo lote e com uma repetibilidade de duas amostras.



Devido às oscilações de temperatura verificadas na estufa no decorrer do ensaio, definiu-se uma variabilidade de  $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Ao longo de 84 dias (1, 3, 7, 10, 14, 21, 35, 49, 70, 77 e 84 dias), periodicamente, as amostras foram recolhidas da estufa para se proceder à determinação do índice de peróxidos, dos coeficientes de extinção nos quatro comprimentos de onda definidos (230, 232, 268 e 270 nm) e da acidez. Procedeu-se, também, à avaliação do aroma e do sabor de algumas amostras de forma a avaliar os efeitos da evolução oxidativa nas características organolépticas dos óleos.

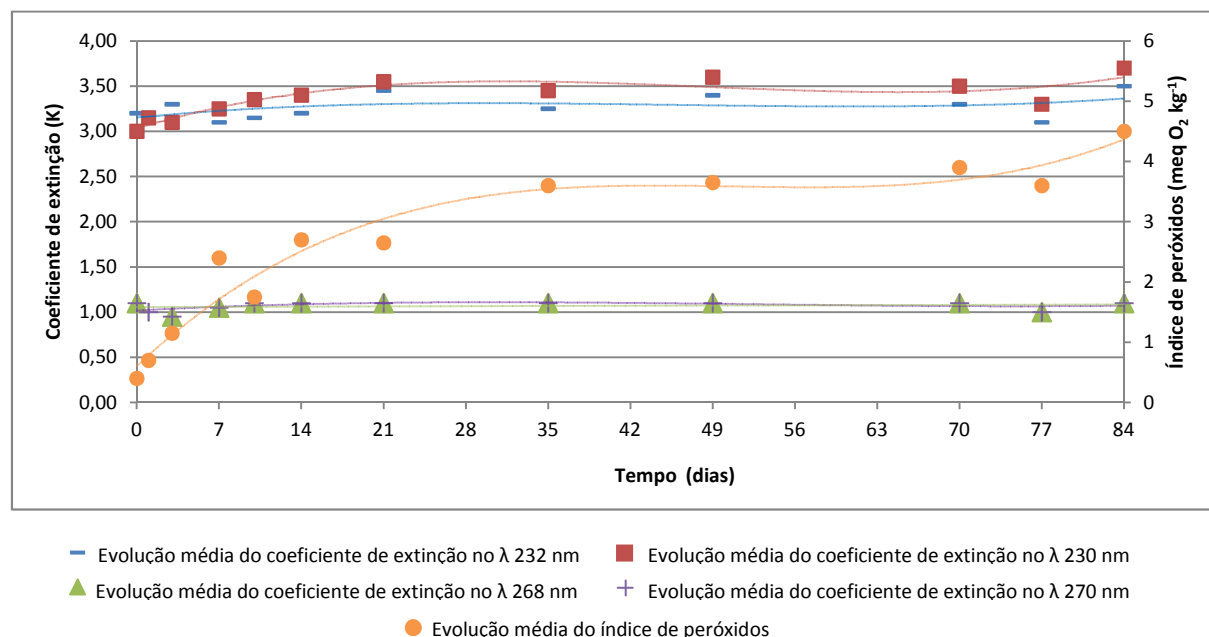
O processo de recolha das amostras da estufa contribui, também, para uma quebra de temperatura que terá de ser recuperada. Estas variabilidades verificadas poderão estar na origem de eventuais oscilações nos resultados das determinações de cada um dos parâmetros analíticos estabelecidos.

### 2.7.2. Resultados

Os resultados obtidos encontram-se detalhadamente apresentados no anexo V.

A evolução do índice de peróxidos e dos coeficientes de extinção no U.V. avaliados no óleo de girassol ao longo dos 84 dias estão registados no anexo V nas tabelas I e II, respectivamente.

Mediante os resultados obtidos, procedeu-se à representação gráfica dos mesmos partindo dos valores médios obtidos em cada um dos parâmetros (figura 18).



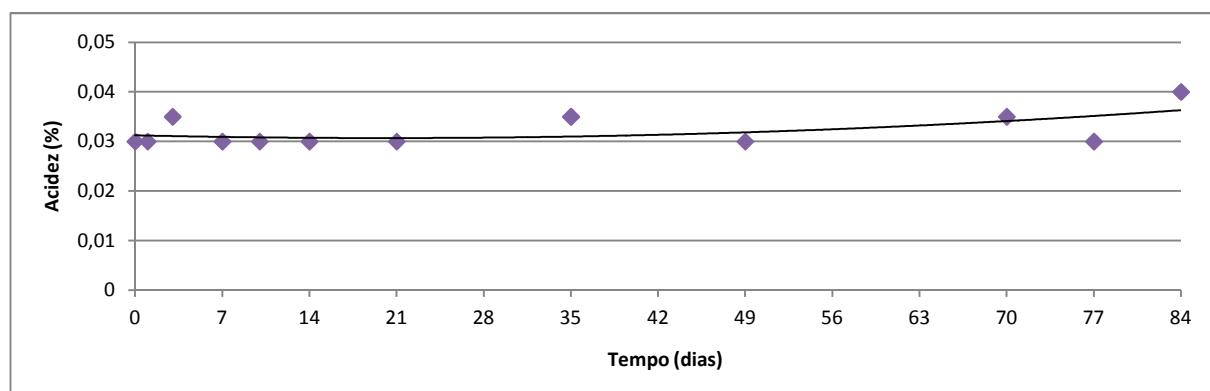
**Figura 18** – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo de girassol.

A figura 18, evidencia uma evolução média dos compostos primários da oxidação (peróxidos, dienos conjugados) coincidente com os resultados da evolução média do índice de peróxidos obtida no mesmo período de análise. Os coeficientes de extinção médios nos comprimentos de onda 230 e 232 nm, bem como, o índice de peróxidos médio, apresentaram uma tendência crescente significativa até ao quadragésimo nono dia. Aos 63 dias, observou-se um acréscimo do índice de peróxidos médio e aos 70 dias os coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 230 e 232 nm registaram também uma inversão na tendência decrescente, o que determina o início da fase de propagação.

Relativamente aos compostos secundários da oxidação (trienos conjugados, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.), verificou-se apresentarem uma evolução média crescente até ao quadragésimo nono dia, mantendo-se relativamente constantes até ao final do ensaio.

Estes resultados sugerem que o tempo de estabilidade do óleo de girassol à temperatura de 42 °C é aproximadamente 63 dias.

Periodicamente, em cada par de amostras, procedeu-se à determinação da acidez obtendo-se os resultados presentes na tabela III no anexo V. Partindo da evolução média da acidez obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 19).



**Figura 19** – Evolução média da acidez do óleo de girassol.

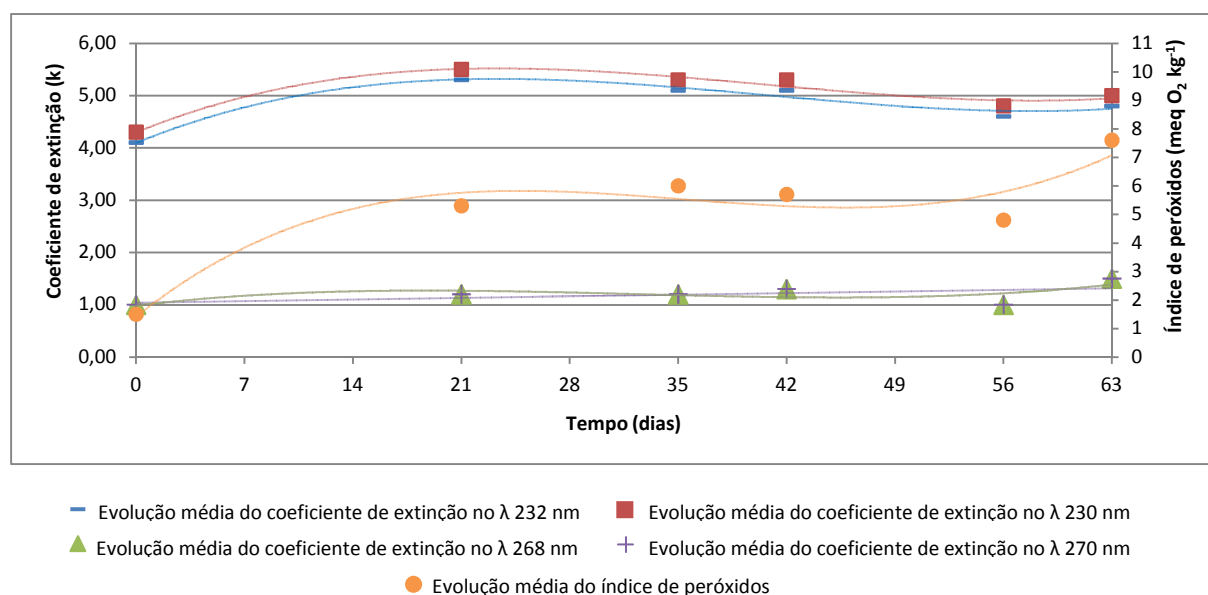
As amostras submetidas à temperatura de 42 °C manifestaram uma acidez relativamente constante até ao 21º dia. Após 21 dias, verificou-se uma tendência crescente até o final do ensaio, atingindo-se uma acidez de 0,04 % aos 84 dias.

Posteriormente, procedeu-se à classificação do aroma e do sabor das amostras que permaneceram mais de 14 dias a 42 °C, presente na tabela IV no anexo V. Ao longo dos 84 dias verificou-se que aroma do óleo se manteve constante (3). Relativamente ao sabor, a classificação 3 manteve-se até ao 21º dia. Após esse período, começaram a surgir os primeiros sinais de oxidação (3<sup>↓</sup>), não sendo

evidenciado o sabor a ranço acentuado. Este resultado coincide com os baixos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 268 e 270 nm obtidos ao longo dos 84 dias de ensaio.

O óleo girassol<sub>spray</sub> foi submetido às mesmas condições experimentais, no entanto, devido à escassez de amostras disponíveis, foi necessário ajustar a periodicidade de recolha das diversas amostras. Este ensaio foi efectuado com 5 garrafas pertencentes ao mesmo lote mas sem repetibilidade de amostras e por um período de tempo inferior (21, 35, 42, 56 e 63 dias).

Os resultados da evolução do índice de peróxidos e dos coeficientes de extinção no U.V. avaliados no óleo girassol<sub>spray</sub> ao longo dos 42 dias podem ser consultados nas tabelas V e VI, respectivamente, presentes no anexo V e estão representados graficamente na figura seguinte (figura 20).



**Figura 20** – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo girassol<sub>spray</sub>.

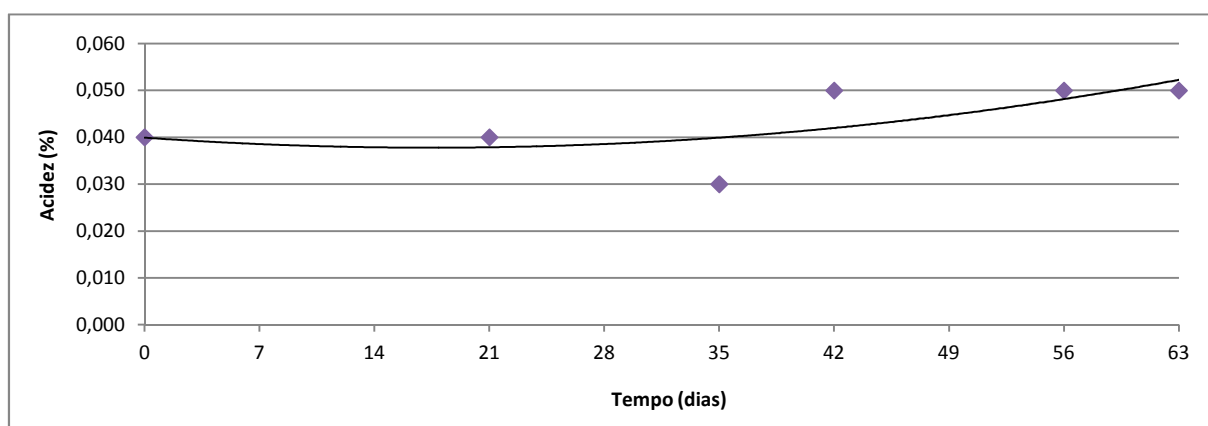
A figura 20, evidencia uma evolução média dos compostos primários da oxidação (peróxidos, dienos conjugados) coincidente com os resultados da evolução média do índice de peróxidos obtida no mesmo período de análise. Os coeficientes de extinção médios nos comprimentos de onda 230 e 232 nm, bem como, o índice de peróxidos médio, apresentaram uma tendência crescente significativa até ao 21º dia. Aos 49 dias, ocorreu um acréscimo dos compostos primários e secundários da oxidação, o que determina o início da fase de propagação e, por conseguinte, o termo da fase de iniciação.

Os coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 268 e 270 nm (trienos conjugados, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.) apresentaram uma tendência evolutiva semelhante.

Pela análise da figura 20 é possível verificar o tempo de estabilidade do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 42 °C é aproximadamente 49 dias.

Comparando estes resultados com os obtidos no óleo de girassol, em cada determinação efectuada após os 21 dias verificou-se que os índices de peróxidos médios registados neste óleo foram, na generalidade das amostras, superiores. Este resultado poderá ser justificado pelo facto de apenas a embalagem do óleo de girassol apresentar uma atmosfera protegida, uma vez que, o contacto do óleo com o oxigénio potencia a formação de peróxidos.

Periodicamente, em cada par de amostras procedeu-se à determinação da acidez obtendo-se os resultados da tabela VII do anexo V. Partindo da evolução da acidez obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 21).



**Figura 21** – Evolução média da acidez do óleo girassol<sub>spray</sub>.

A amostra analisada no mês de produção/embalamento referente ao mesmo lote de óleo girassol<sub>spray</sub> revelou uma acidez de 0,04 %, que se manteve nas primeiras amostras submetidas à temperatura de 42 °C, durante 21 dias. Aos 35 dias este óleo apresentou uma redução deste parâmetro analítico. Este resultado poderá estar relacionado com eventuais erros analíticos associados ao operador de laboratório envolvido na titulação destas amostras. Após esse período verificou-se um acréscimo significativo da acidez, atingindo-se um valor bastante superior ao obtido no óleo de girassol, mantendo-se constante até ao final do ensaio mas manifestando uma tendência crescente.

Posteriormente, o aroma e o sabor das amostras que permaneceram 35 e 42 dias à temperatura de 42 °C foram avaliados e classificados. O resultado da avaliação organoléptica destas amostras, presente na tabela VIII no anexo V, revela os primeiros sinais de oxidação aos 35 dias e sinais de rancificação acentuada aos 42 dias, essencialmente ao nível do sabor (classificação 3<sup>↓</sup> aos 35 dias e 2 aos 42 dias), apesar de o aroma permanecer agradável e característico da semente (4<sup>↓</sup>). Aos 42 dias

surgiu um acréscimo significativo ao nível dos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 268 e 270 nm (1,3), o que faria prever este resultado.

## **2.8. Estudo da evolução oxidativa nos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 55 °C**

Com o intuito de acelerar o processo de oxidação dos óleos, face ao ensaio anterior, foi necessário definir uma temperatura de ensaio superior, seguindo as condições experimentais definidas no ponto 2.5 do presente estudo.

### **2.8.1. Metodologia experimental**

Para o óleo de girassol definiu-se um período de análise de 49 dias, com uma periodicidade de recolha das amostras de 7 dias (1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49).

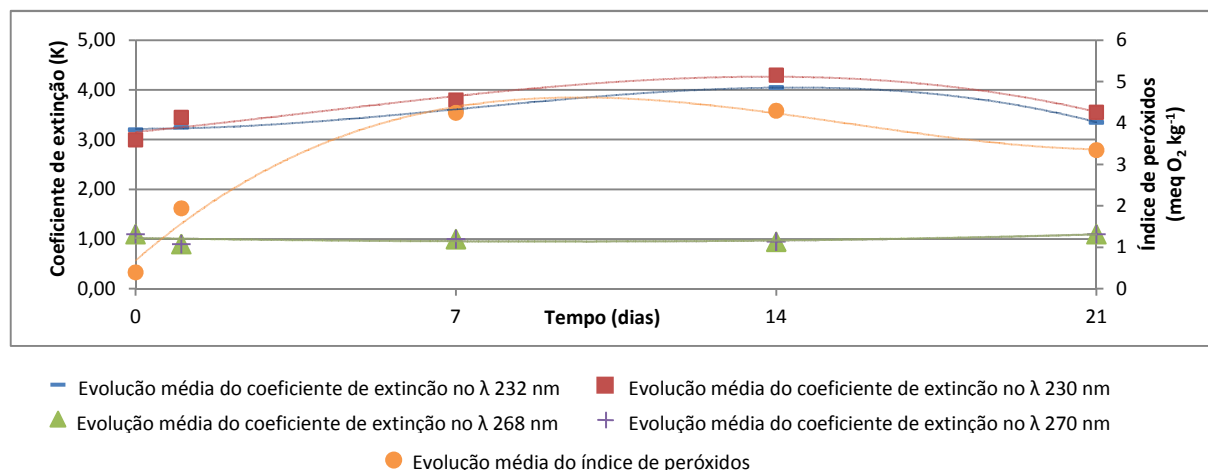
As 16 amostras necessárias a este estudo pertencem ao mesmo lote garantindo-se, desta forma, uma uniformização na composição inicial das mesmas. No entanto, após 21 dias de permanência na estufa, o aumento de volume associado à temperatura elevada, promoveu a saída de óleo na generalidade das garrafas e, em algumas amostras, a cápsula cedeu devido à elevada pressão exercida pelo óleo. Uma vez que o contacto com o oxigénio iria influenciar substancialmente os resultados, apenas foram analisadas as amostras que permaneceram 1, 7, 14 e 21 dias na estufa.

Após a recolha de cada par de amostras, procedeu-se à determinação do índice de peróxidos, dos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda definidos e da acidez.

### **2.8.2. Resultados**

Os resultados obtidos encontram-se detalhadamente apresentados no anexo VI.

Os resultados da evolução do índice de peróxidos e dos coeficientes de extinção no U.V. avaliados no óleo de girassol ao longo dos 21 dias estão registados nas tabelas I e II, respectivamente, no anexo VI e estão representados graficamente na figura seguinte (figura 22).



**Figura 22** – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo de girassol.

A figura 22 evidencia uma evolução crescente do índice de peróxidos médio até ao sétimo dia, verificando-se, posteriormente, uma redução gradual do mesmo. Os coeficientes de extinção médios nos comprimentos de onda 230 e 232 nm (peróxidos, dienos conjugados) apresentaram uma tendência crescente até ao 14º dia. Aos 21 dias verificou-se um ligeiro aumento dos compostos secundários de oxidação (trienos conjugados, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.).

Através da substituição da variável independente (x) por valores superiores aos avaliados neste ensaio, efectuou-se a previsão da evolução média do índice de peróxidos após 21 dias à temperatura de 55 °C. Verificou-se que a evolução média do índice de peróxidos segue uma distribuição polinomial, com um coeficiente de determinação de 0,9779 e definida pela seguinte equação:

$$y = -0,0015x^3 - 0,0716x^2 + 0,956x + 0,6842$$

Os resultados obtidos da substituição da variável independente (x) por valores superiores aos avaliados neste ensaio, encontram-se representados na tabela seguinte (tabela XXX).

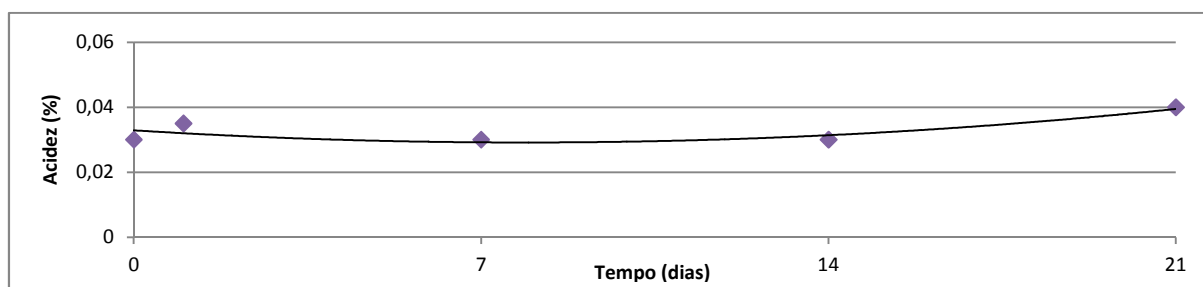
**Tabela XXX** – Previsão média do índice de peróxidos após 21 dias na estufa à temperatura de 55 °C, para o óleo de girassol.

Tempo (dias)	Índice de peróxidos médio (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
21	3,07
22	3,03
23	3,05
25	3,27
28	4,25

Pela análise da tabela anterior, é possível verificar que a evolução do índice de peróxidos médio apresenta uma tendência decrescente até aos 22 dias. Aos 23 dias, verifica-se uma inversão da

tendência decrescente, o que determina o início da fase de propagação. Neste sentido, o tempo de estabilidade do óleo de girassol à temperatura de 55 °C é aproximadamente 22 dias.

Periodicamente, em cada par de amostras, procedeu-se à determinação da acidez obtendo-se os resultados presentes na tabela III no anexo VI. Partindo da evolução média da acidez obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 23).



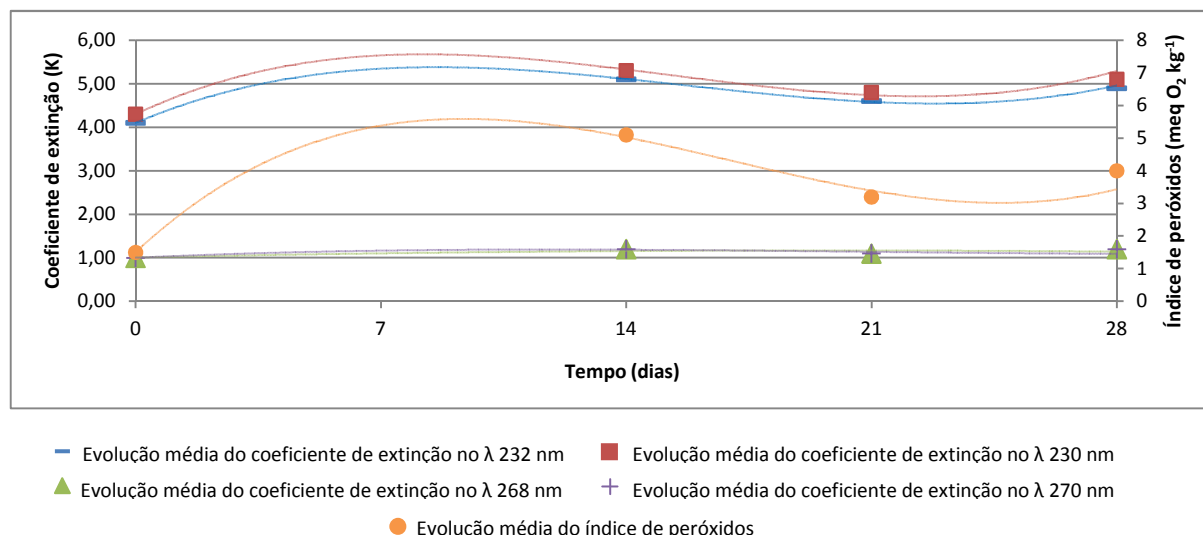
**Figura 23** – Evolução média da acidez do óleo de girassol.

A amostra analisada no mês de produção/embalamento referente ao mesmo lote de óleo de girassol revelou uma acidez de 0,03 %. As amostras submetidas à temperatura de 55 °C durante um dia atingiram uma acidez média ligeiramente superior. No entanto, a acidez inicial foi recuperada ao sétimo dia. Após o 14º dia, a acidez do óleo aumentou para 0,04 %.

Posteriormente, o aroma e o sabor das amostras que permaneceram 1 e 21 dias à temperatura de 55 °C foram avaliados e classificados. O resultado da avaliação organoléptica destas amostras, presente na tabela IV no anexo VI, revela os primeiros sinais de oxidação, essencialmente ao nível do sabor ( $3^{\downarrow}$ ). Aos 21 dias as amostras apresentam também sinais de oxidação ( $3^{\downarrow}$ ) mas ainda não é perceptível o aroma e o sabor a ranço acentuado.

No óleo girassol<sub>spray</sub> foi definida uma periodicidade de análise de 7 dias ao longo de 28 dias (14, 21, 28, 35 e 42 dias) e sem repetibilidade de amostras. As 5 amostras necessárias a este estudo pertencem ao mesmo lote garantindo-se, desta forma, uma uniformização na composição inicial das mesmas. Contudo, após 21 dias de permanência na estufa verificou-se que a generalidade das garrafas começou a verter devido ao aumento de volume associado à temperatura a que estavam expostas. Contudo, procedeu-se à determinação dos diversos parâmetros na totalidade das amostras.

Os resultados da evolução do índice de peróxidos e dos coeficientes de extinção no U.V. avaliados no óleo girassol<sub>spray</sub> ao longo dos 15 dias estão registados nas tabelas V e VI, respectivamente, no anexo VI e estão representados graficamente na figura seguinte (figura 24).



**Figura 24** – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Pela análise da figura anterior (figura 24), verifica-se que os coeficientes de extinção médios nos comprimentos de onda 230 e 232 nm (peróxidos, dienos conjugados) apresentam uma evolução semelhante à registada no índice de peróxidos médio. Esta evolução apresentou uma tendência crescente até ao nono dia, verificando-se uma redução gradual posteriormente. Aos 26 dias surgiu, novamente, um ligeiro acréscimo da generalidade dos compostos primários (peróxidos, dienos conjugados), bem como, dos compostos secundários (trienos conjugados, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.), o que determina o final da fase de iniciação e, por conseguinte, o início da fase de propagação.

Neste sentido, o tempo de estabilidade do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 55 °C é aproximadamente 26 dias.

No entanto, os resultados obtidos no óleo girassol<sub>spray</sub> após os 21 dias de permanência na estufa, poderão não ser representativos, uma vez que, após esse período as garrafas começaram a verter algum óleo, aumentando a exposição do óleo ao oxigénio.

Periodicamente, em cada par de amostras procedeu-se à determinação da acidez obtendo-se os resultados registados na tabela VII no anexo VI.

A amostra analisada no mês de produção/embalamento referente ao mesmo lote de óleo girassol<sub>spray</sub> revelou uma acidez de 0,04 %. As amostras submetidas à temperatura de 55 °C ao longo dos 15 dias não apresentaram alterações neste parâmetro.

Posteriormente, o aroma e o sabor das amostras que permaneceram 14 e 28 dias à temperatura de 55 °C foram avaliados e classificados. O resultado da avaliação organoléptica destas amostras,



presente na tabela VIII no anexo VI, revela sinais de rancificação acentuada, essencialmente ao nível do sabor (classificação 2 ao 14º dia e 2<sup>↓</sup> ao 28º dia), apesar de no aroma ainda não surgirem sinais de oxidação (3).

No mês de produção/embalamento do referido óleo os coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 268 e 270 nm apresentavam o valor 1,0. Ao 14º dia, estes coeficientes já apresentavam um acréscimo substancial (1,2), o que faria prever este resultado.

## 2.9. Estudo da evolução oxidativa nos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 50 °C

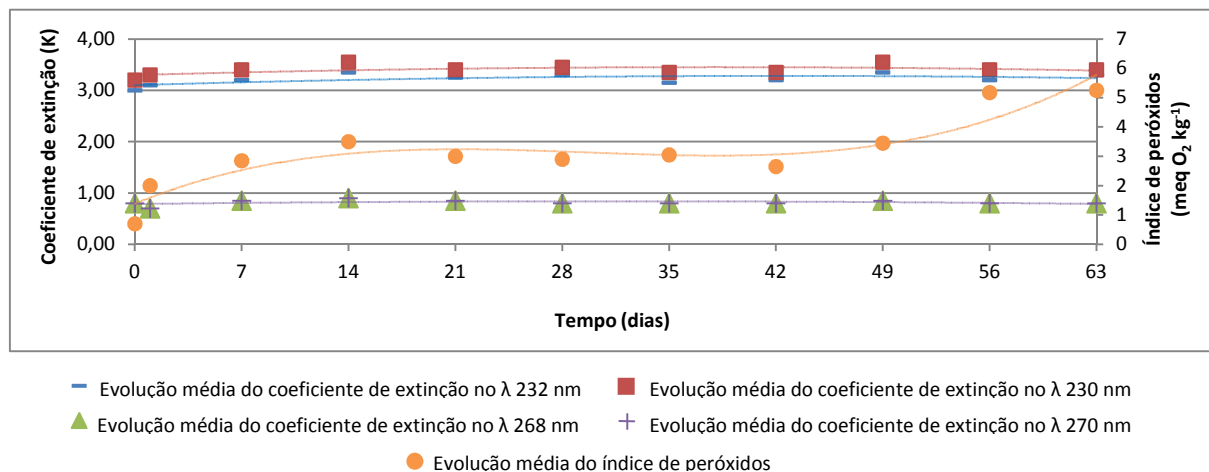
Pretendendo-se prolongar o tempo de permanência na estufa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub>, face ao ensaio anterior, optou-se por reduzir ligeiramente a temperatura, repetindo o ensaio à temperatura de 50 °C.

### 2.9.1. Metodologia experimental

As 20 amostras necessárias a este estudo pertencem ao mesmo lote garantindo-se, desta forma, uma uniformização na composição inicial das mesmas. Ao longo de 63 dias (1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 dias), periodicamente, as amostras foram recolhidas da estufa para posterior análise dos diversos parâmetros analíticos.

### 2.9.2. Resultados

Os resultados obtidos encontram-se detalhadamente apresentados no anexo VII. Os resultados da evolução do índice de peróxidos e dos coeficientes de extinção no U.V. avaliados no óleo de girassol ao longo dos 63 dias estão registados nas tabelas I e II, respectivamente, no anexo VII. Mediante os resultados obtidos, procedeu-se à representação gráfica dos mesmos partindo dos valores médios obtidos em cada um dos parâmetros (figura 25).

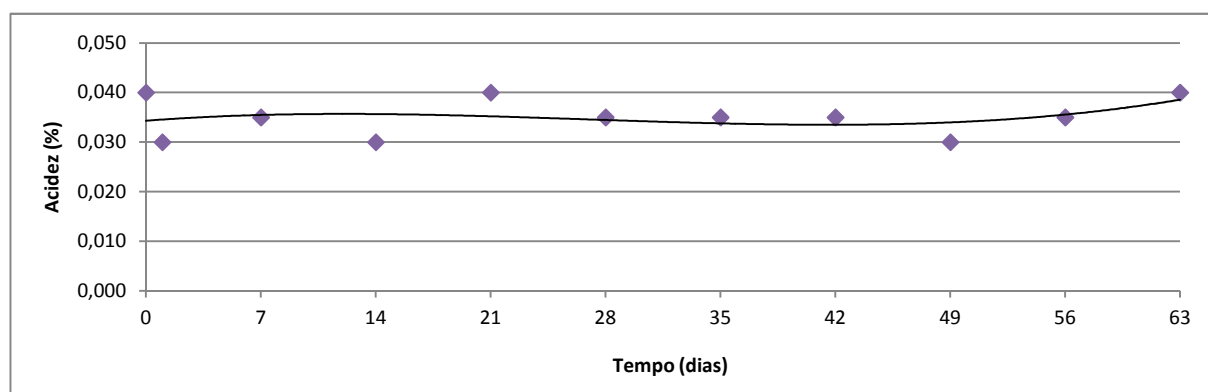


**Figura 25** – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo de girassol.

A figura 25, evidencia uma evolução média dos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 230 e 232 nm (peróxidos, dienos conjugados) crescente ao longo de 49 dias. Relativamente ao índice de peróxidos médio, verificou-se uma tendência crescente até ao 14º dia. Após esse período, observou-se um ligeiro decréscimo deste parâmetro, invertendo-se a tendência decrescente aos 42 dias, o que determina o início da fase de propagação. Os compostos secundários da oxidação (trienos conjugados, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.) não registaram alterações significativas ao longo dos 63 dias.

Estes resultados sugerem que o tempo de estabilidade do óleo de girassol à temperatura de 50 °C é aproximadamente 42 dias.

Periodicamente, em cada par de amostras, procedeu-se à determinação da acidez obtendo-se os resultados registados na tabela III do anexo VII. Partindo da evolução média da acidez obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 26).



**Figura 26** – Evolução média da acidez do óleo de girassol.

As amostras submetidas à temperatura de 50 °C manifestaram uma acidez relativamente instável, essencialmente nas primeiras determinações efectuadas. Estas oscilações poderão estar relacionadas com eventuais erros analíticos associados ao operador de laboratório na titulação das respectivas amostras.

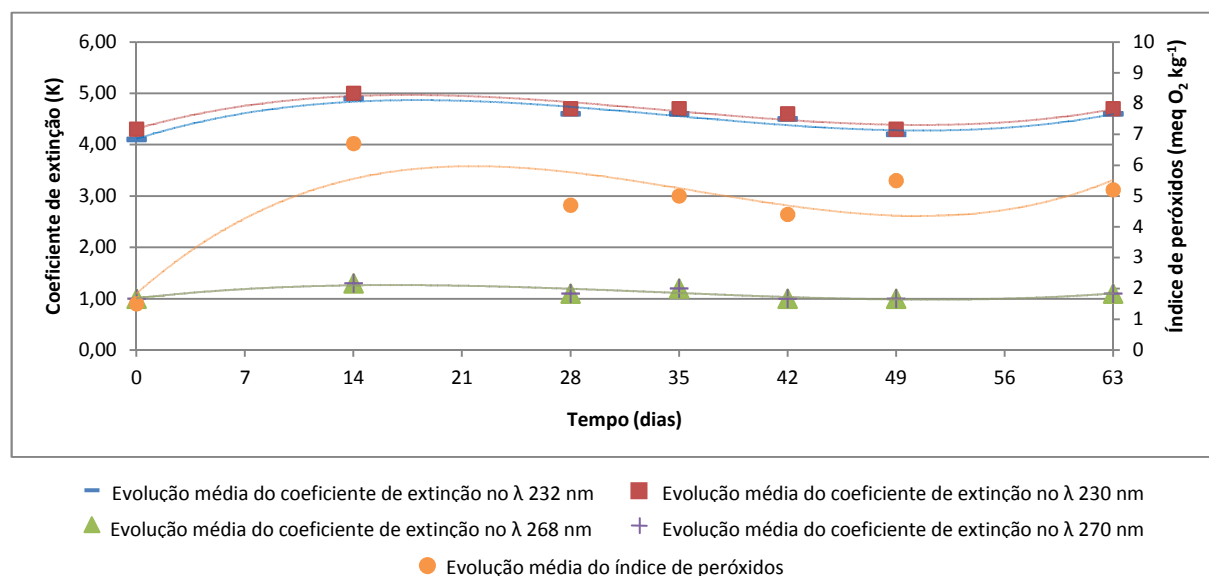
Após 21 dias, verificou-se uma tendência decrescente. Aos 42 dias observou-se a inversão da tendência decrescente que se manteve crescente até ao final do ensaio.

Posteriormente, procedeu-se à avaliação do aroma e do sabor das amostras que permaneceram 21, 28 e 63 dias a 50 °C, presente na tabela IV no anexo VII. Ao longo dos 63 dias verificou-se que aroma e o sabor do óleo se manteve constante (3). Este resultado coincide com os baixos coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 268 e 270 nm obtidos ao longo dos 63 dias de ensaio.

O óleo girassol<sub>spray</sub> foi submetido às mesmas condições experimentais, no entanto, devido à escassez de amostras disponíveis, foi necessário ajustar a periodicidade de recolha das diversas amostras. Este ensaio foi efectuado sem repetibilidade de amostras (14, 28, 35, 42, 49 e 63 dias).

Os resultados dos parâmetros avaliados para o óleo girassol<sub>spray</sub> podem ser consultados no anexo VII.

Os resultados da evolução do índice de peróxidos e dos coeficientes de extinção no U.V. avaliados no óleo girassol<sub>spray</sub> ao longo dos 63 dias estão registados nas tabelas V e VI, respectivamente, no anexo VII e estão representados graficamente na figura seguinte (figura 27).



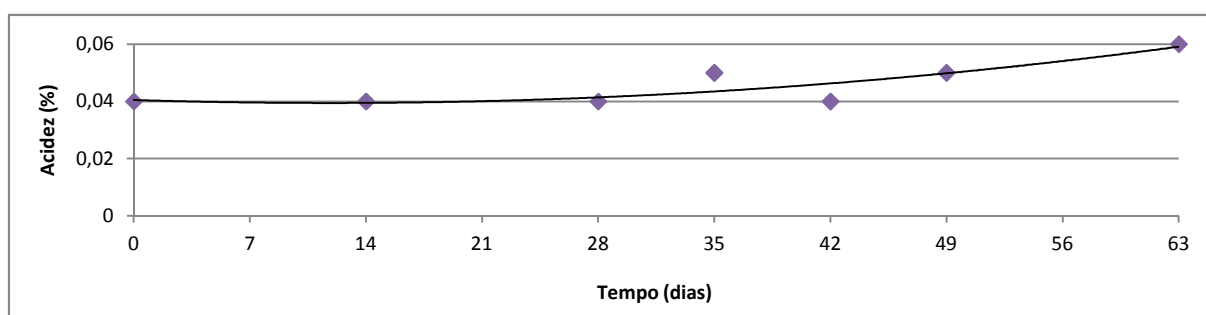
**Figura 27** – Evolução média dos coeficientes de extinção e do índice de peróxidos do óleo girassol<sub>spray</sub>.

A figura 27, evidencia uma evolução média dos compostos primários da oxidação (peróxidos, dienos conjugados) coincidente com os resultados da evolução média do índice de peróxidos obtida no mesmo período de análise. Os coeficientes de extinção médios nos comprimentos de onda 230 e 232 nm, bem como, o índice de peróxidos médio, apresentaram uma tendência crescente significativa até ao 21º dia. Aos 54 dias, ocorreu um acréscimo do índice de peróxidos médio e dos compostos primários (peróxidos, dienos conjugados) e secundários da oxidação (trienos conjugados, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.), o que determina o início da fase de propagação e, por conseguinte, o termo da fase de iniciação. Os coeficientes de extinção nos comprimentos de onda 268 e 270 nm apresentaram uma tendência evolutiva semelhante.

Pela análise da figura 27 é possível verificar o tempo de estabilidade do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 50 °C é aproximadamente 54 dias.

Comparando estes resultados com os obtidos no óleo de girassol, em cada determinação efectuada após os 14 dias verificou-se que os índices de peróxidos médios registados neste óleo foram, na generalidade das amostras, superiores. Este facto foi igualmente visível nos compostos de oxidação (peróxidos, dienos e trienos conjugados). Este resultado poderá ser justificado pelo facto de apenas a embalagem do óleo de girassol apresentar uma atmosfera protegida, uma vez que, o contacto do óleo com o oxigénio potencia a reacção de oxidação.

Periodicamente, em cada par de amostras procedeu-se à determinação da acidez obtendo-se os resultados registados na tabela VII no anexo VII. Partindo da evolução da acidez obteve-se a representação gráfica seguinte (figura 28).



**Figura 28** – Evolução média da acidez do óleo girassol<sub>spray</sub>.

A amostra analisada no mês de produção/embalamento referente ao mesmo lote de óleo girassol<sub>spray</sub> revelou uma acidez de 0,04 %, que se manteve nas primeiras amostras submetidas à temperatura de 50 °C, durante 28 dias. Após esse período, verificou-se uma tendência crescente que se manteve até ao final do ensaio, atingindo-se uma acidez média de 0,06 % aos 63 dias de permanência na estufa.

Posteriormente, procedeu-se à avaliação do aroma e do sabor das amostras que permaneceram 21, 28, 49 e 63 dias a 50 °C, presente na tabela VIII no anexo VII. Ao longo dos 28 dias verificou-se que aroma e o sabor do óleo se manteve constante (3). No entanto, aos 49 e aos 63 dias surgiram sinais de rancificação acentuada (2).

## 2.10. Conclusões intercalares

O presente ensaio permitiu acelerar o envelhecimento dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> refinados mediante o factor temperatura. Os parâmetros analíticos avaliados (índice de peróxidos, acidez e leituras de absorvâncias nos comprimentos de onda 230, 232, 268 e 270 nm) apresentaram uma distribuição polinomial. A evolução dos compostos primários e secundários da oxidação permitiu verificar o tempo de estabilidade destes óleos (tabela XXXI).

**Tabela XXXI** – Tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> às temperaturas de 42, 50 e 55 °C.

Óleos	Tempos de estabilidade (dias)		
	42 °C	50 °C	55 °C
Girassol	63	42	22
Girassol <sub>spray</sub>	49	54	26

A temperatura de 42 °C o óleo de girassol apresentou uma estabilidade bastante superior ao girassol<sub>spray</sub>. No entanto, uma vez que o óleo girassol<sub>spray</sub> não apresenta atmosfera protegida seria de esperar que apresentasse tempos de estabilidade inferiores nas diversas temperaturas, o que não se verificou à temperatura de 50 e 55 °C. Por outro lado, a generalidade das amostras de óleo de girassol apresentaram um índice de peróxidos inferior ao do óleo girassol<sub>spray</sub>. O mesmo resultado foi observado nas leituras de absorvâncias efectuadas nos comprimentos de onda 230, 232, 268 e 270 nm.

Estes resultados poderão ser justificados pelas alterações ocorridas no mecanismo de oxidação devido às elevadas temperaturas que potenciam a ocorrência de reacções laterais normalmente irrelevantes à temperatura ambiente. Como consequência, verifica-se a formação de novos antioxidantes ou pro-oxidantes que podem falsear as determinações. (COMANDINI *et al*, 2009; RUIZ *et al*, 2008).

No óleo de girassol, à temperatura de 55 °C, foi necessário efectuar uma previsão do tempo de estabilidade, uma vez que, a temperatura elevada potenciou o aumento do volume do óleo no interior da garrafa promovendo a expulsão das cápsulas. Neste sentido foi necessário interromper o ensaio.

Na avaliação do aroma e do sabor, observou-se que o óleo de girassol não apresentou sinais de ranço acentuado ao longo do ensaio nas três temperaturas usadas, ao contrário do girassol<sub>spray</sub> (tabela XXXII).

**Tabela XXXII** – Avaliação organoléptica dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> às temperaturas de 42, 50 e 55 °C.

Óleos	Temperatura de 42 °C			Temperatura de 50 °C			Temperatura de 55 °C		
	Tempo (dias)	A	S	Tempo (dias)	A	S	Tempo (dias)	A	S
Girassol	0	4	4	0	4	4	0	4	4
	84	3	3 <sup>↓</sup>	63	3	3	21	3 <sup>↓</sup>	3 <sup>↓</sup>
Girassol <sub>spray</sub>	0	4	3	0	4	3	0	4	3
	63	2	2	63	2	2	28	3	2 <sup>↓</sup>

A: aroma; S: sabor

Pela análise da tabela anterior (tabela XXXII) é possível verificar que o aroma e o sabor a ranço surgiu mais cedo no óleo girassol<sub>spray</sub>. Esta avaliação permite concluir que a presença de oxigénio no espaço de cabeça da garrafa afecta substancialmente as características organolépticas do óleo, sugerindo um tempo de estabilidade inferior, face ao óleo de girassol.

## II. 3. Ensaio 3 – Estudo da estabilidade oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> através do *Rancimat*

### 3.1. Objectivos

Com o intuito de acelerar o processo oxidativo, diversas amostras de óleo de girassol e girassol<sub>spray</sub> refinados foram submetidas a um ensaio no *Rancimat*.

Este método permite fornecer informações úteis relativas à estabilidade oxidativa dos óleos através da conjugação de três parâmetros operacionais: temperatura, fluxo de ar e o peso da amostra. Este método baseia-se numa medição contínua, sem necessidade de efectuar determinações analíticas e periódicas e sem recorrer a solventes orgânicos. A facilidade de utilização do equipamento e a sua reprodutibilidade foram os factores determinantes na selecção deste método (FARHOOSH, 2007; PARDAUIL *et al*, 2011).

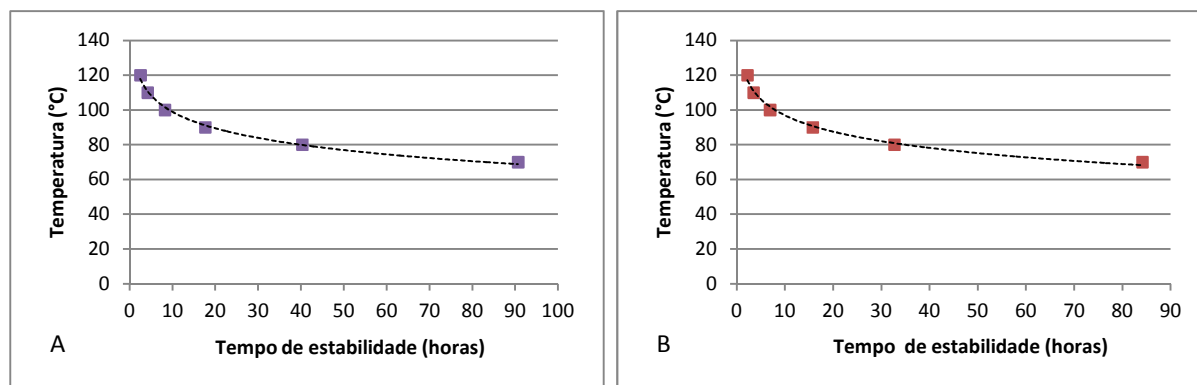
Este teste baseia-se na monitorização da condutividade de uma amostra de óleo aquecida, a uma temperatura pré-estabelecida, e submetida a um fluxo de ar contínuo. Desta forma, o processo oxidativo é acelerado, formando-se compostos voláteis que são conduzidos para um recipiente com água destilada e um eléctrodo de condutividade. Assim, a condutividade aumenta continuamente até se atingir o período de indução. A partir deste ponto, surge um aumento abrupto da velocidade da reacção oxidativa, verificando-se um acréscimo acentuado na formação de peróxidos e de produtos secundários da oxidação. Este ponto é facilmente identificado no gráfico de condutividade *versus* tempo, dado pelo próprio equipamento, e corresponde ao tempo a que a amostra resiste à degradação acelerada nas condições experimentais estabelecidas.

### 3.2. Metodologia experimental

Este ensaio foi efectuado com uma toma de ensaio de 3 g, um fluxo de ar de 20 L h<sup>-1</sup> e 60 mL de água destilada. As amostras foram submetidas a diversas temperaturas (120 °C, 110 °C, 100 °C, 90 °C, 80 °C e 70 °C) mantendo as restantes variáveis constantes. A totalidade de amostras de óleo de girassol e girassol<sub>spray</sub> submetidas ao ensaio pertencem ao mesmo lote, respectivamente.

### 3.3. Resultados

Os resultados obtidos podem ser consultados na tabela I e II do anexo VIII e estão representados graficamente na figura seguinte (figura 29).



**Figura 29** – Evolução do tempo de estabilidade oxidativa dos óleos de girassol (A) e girassol<sub>spray</sub> (B).

Pela análise da figura 29, é possível verificar que à medida que a temperatura é reduzida em 10 °C, o acréscimo do tempo de estabilidade aumenta substancialmente.

Através da substituição da variável dependente (y) efectuou-se a previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C. Verificou-se que a evolução média do tempo de estabilidade apresenta uma tendência logarítmica.

Os resultados obtidos da substituição da variável dependente (y) encontram-se representados na tabela seguinte (tabela XXXIII).

**Tabela XXXIII** – Previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C.

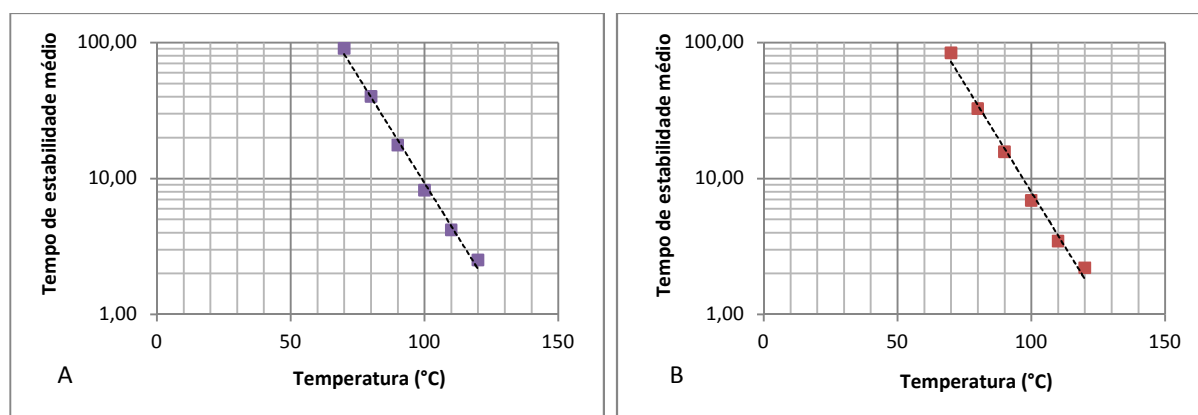
	Óleo de girassol	Óleo girassol <sub>spray</sub>
Equação da função	$y = -13,66 \ln x + 130,37$	$y = -13,46 \ln x + 127,86$
Coeficiente de determinação	$R^2 = 0,994$	$R^2 = 0,990$
$y = 20\text{ °C}$	$x = 4,4$ meses	$x = 4,1$ meses

Pela análise da tabela anterior, é possível verificar que ambos os óleos apresentaram um tempo de estabilidade semelhante à temperatura de 20 °C.

Segundo FARHOOSH (2007), logaritimizando os resultados obtidos neste ensaio é possível obter uma recta linear com um coeficiente de determinação bastante elevado e que permite extrapolar os dados no sentido de obter um tempo de estabilidade oxidativa correspondente ao armazenamento das amostras à temperatura ambiente.

Logaritimizando os tempos de estabilidade médios obtidos a cada temperatura obteve-se as representações gráficas seguintes (figura 30):





**Figura 30** – Evolução do tempo de estabilidade médio obtido a cada temperatura de ensaio, para os óleos de girassol (A) e girassol<sub>spray</sub> (B).

A evolução média do tempo de estabilidade apresenta uma tendência linear. Através da substituição da variável independente (x) efectuou-se a previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C. Os resultados obtidos da substituição da variável independente (x) encontram-se representados na tabela seguinte (tabela XXXIV).

**Tabela XXXIV** – Previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C.

	Óleo de girassol	Óleo girassol <sub>spray</sub>
Equação da função	$y = 13378e^{-0,073x}$	$y = 12457e^{-0,074x}$
Coeficiente de determinação	$R^2 = 0,994$	$R^2 = 0,990$
$x = 20\text{ °C}$	$y = 4,3\text{ meses}$	$y = 3,9\text{ meses}$

As tabelas XXXIII e XXXIV sugerem uma evolução idêntica em ambos os óleos e indicam um tempo de estabilidade médio ligeiramente inferior no óleo girassol<sub>spray</sub>.

### 3.4. Conclusões intercalares

Os resultados obtidos através da tendência logarítmica são idênticos os resultados obtidos logaritmando os valores de estabilidade obtidos nas mesmas condições experimentais, em ambos os óleos e a estabilidade obtida em cada um dos óleos à temperatura ambiente é bastante próxima (aproximadamente 4 meses).

No entanto, considerando cada temperatura usada um ensaio isolado, o óleo de girassol apresentou, sempre, um tempo de estabilidade médio superior ao óleo girassol<sub>spray</sub>.

Segundo diversos autores, os testes de envelhecimento acelerado podem reproduzir resultados que subestimem ou superestimem a vida útil dos óleos, uma vez que as condições experimentais a que os

óleos estão expostos diferem das condições de armazenamento dos mesmos à temperatura ambiente (ANTONIASSI, 2001; COMANDINI *et al*, 2009; FOX *et al*, 2006).

Comparando este resultado com o ensaio 1, a previsão do tempo de estabilidade do óleo de girassol, tendo como base os dados obtidos no *Rancimat*, foi bastante subestimada.

### III. Discussão de Resultados

O ensaio 1 permitiu observar que o óleo de girassol em estudo apresenta uma estabilidade superior aos óleos de amendoim e de soja em estudo, respectivamente, uma vez que os primeiros sinais de ranço acentuado foram detectados aos 18 meses, apenas, em 3 dos 10 lotes avaliados. No óleo de amendoim, aos 18 meses, 5 dos 10 lotes já apresentavam sinais de ranço acentuado e no óleo de soja, aos 16 meses, dos 15 lotes avaliados, 9 já apresentavam aroma e/ou sabor a ranço acentuado.

Para comparar de forma directa diversos óleos refinados é necessário garantir todos os factores influenciadores da evolução oxidativa. No entanto, os óleos em estudo são provenientes de refinarias diferentes, sendo sujeitos a transportes e descargas várias que poderão ter influenciado, de alguma forma, os resultados obtidos nos diversos parâmetros analíticos avaliados, contribuindo para a variabilidade registada em determinados pontos. De forma a validar os resultados obtidos seria necessário analisar em detalhe os resultados e fazer a rastreabilidade a lotes, diferenciando lotes com base na sua proveniência (refinaria), nas condições de refinação e tendo em conta o perfil de ácidos gordos de cada óleo.

No ensaio 2, foram avaliados dois óleos refinados com a mesma composição mas com sistemas de embalagem diferentes. O óleo girassol<sub>spray</sub>, ao contrário do óleo de girassol em estudo, não apresenta atmosfera protegida. Ambas as embalagens são constituídas por PET, no entanto, o óleo de girassol apresenta uma embalagem com a capacidade de 1 L e com uma cápsula bi-peça, enquanto que, o girassol<sub>spray</sub> apresenta uma embalagem em *spray* com menor capacidade (250 mL). Este ensaio permitiu, também, avaliar a influência destes factores no tempo de estabilidade destes óleos.

Com base nos parâmetros analíticos avaliados, à temperatura de 42 °C verificou-se que o óleo de girassol em estudo apresentou um tempo de estabilidade superior, no entanto, este resultado não se manteve nas restantes temperaturas. Às temperaturas de 50 e 55 °C, o óleo girassol<sub>spray</sub> apresentou um tempo de estabilidade ligeiramente superior.

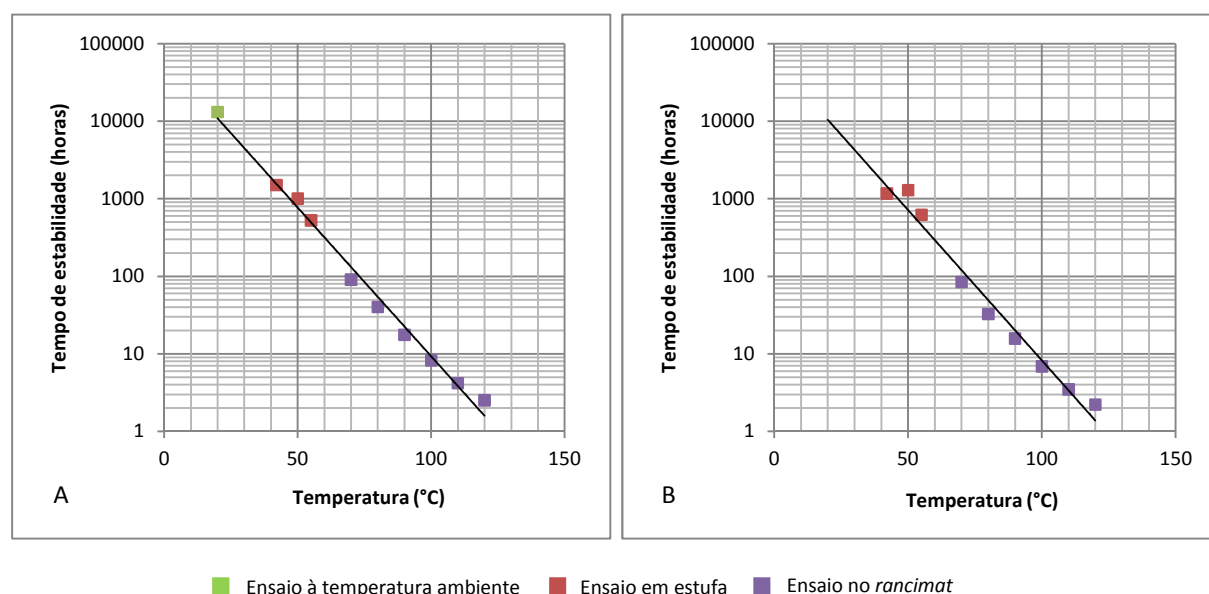
Este resultado poderá estar relacionado com as alterações ocorridas no mecanismo de oxidação devido às elevadas temperaturas que potenciam a ocorrência de reacções laterais normalmente irrelevantes à temperatura ambiente.

No entanto, a avaliação das características organolépticas sugere que no óleo girassol<sub>spray</sub> os sinais de ranço acentuado surgem mais cedo, face ao óleo de girassol em estudo. Esta avaliação permite concluir que a presença de oxigénio no espaço de cabeça da garrafa afecta substancialmente as

características organolépticas do óleo, sugerindo um tempo de estabilidade inferior, face ao óleo de girassol em estudo.

No ensaio 3, na gama de temperaturas usada, o óleo de girassol em estudo apresentou, sempre, tempos de estabilidade médios superiores ao óleo girassol<sub>spray</sub>.

A figura seguinte (figura 31), relaciona os resultados obtidos mediante os testes de envelhecimento acelerado com os resultados observados à temperatura ambiente, expressos em logaritmos de tempo de estabilidade.



**Figura 31** – Evolução do tempo de estabilidade médio obtido na gama de temperaturas usadas nos 3 ensaios, para os óleos de girassol (A) e girassol<sub>spray</sub> (B).

A evolução média do tempo de estabilidade apresenta uma tendência linear. Através da substituição da variável independente (x) efectuou-se a previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C.

Os resultados obtidos da substituição da variável independente (x) encontram-se representados na tabela seguinte (tabela XXXV).

**Tabela XXXV** – Previsão do tempo de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 20 °C.

	Óleo de girassol	Óleo girassol <sub>spray</sub>
Equação da função	$y = 63667e^{-0,088x}$	$y = 62180e^{-0,089x}$
Coeficiente de determinação	$R^2 = 0,9913$	$R^2 = 0,9778$
$x = 20\text{ °C}$	$y = 15\text{ meses}$	$y = 14\text{ meses}$

A tabela XXXV sugere uma evolução idêntica em ambos os óleos e indicam um tempo de estabilidade médio ligeiramente inferior no óleo girassol<sub>spray</sub>. A previsão do tempo de estabilidade à temperatura de 20 °C no óleo de girassol em estudo é, também, inferior ao resultado observado no ensaio 1. Verificando-se que a estabilidade do óleo de girassol foi bastante subestimada será plausível assumir o mesmo para o óleo girassol<sub>spray</sub>.

Uma vez que no ensaio 1 não foi efectuado o estudo do óleo girassol<sub>spray</sub>, foi necessário extrapolar os resultados obtidos nos diversos ensaios com o intuito de prever o tempo de estabilidade deste óleo à temperatura ambiente, com base nas diferenças observadas entre os dois óleos.

A tabela seguinte (tabela XXXVI) reúne os tempos de estabilidade, em horas, observados nos três ensaios.

**Tabela XXXVI** – Tempos de estabilidade dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> observados nos 3 ensaios.

Ensaio	Temperatura (°C)	Óleo de girassol		Óleo girassol <sub>spray</sub>	
		TE (h)	log TE	TE (h)	log TE
Ensaio no <i>Rancimat</i>	120	2,52	0,4014	2,21	0,3444
	110	4,19	0,6222	3,48	0,5416
	100	8,23	0,9154	6,90	0,8388
	90	17,63	1,2463	15,75	1,1973
	80	40,28	1,6051	32,70	1,5145
	70	90,65	1,9574	84,15	1,9251
Ensaio na estufa	55	528,00	2,7226	624,00	2,7952
	50	1008,00	3,0035	1296,00	3,1126
	42	1512,00	3,1796	1176,00	3,0704
Ensaio à temperatura ambiente	20	13132,80	4,1184	-	-

TE: Tempo de Estabilidade

Pela análise da tabela anterior, é possível verificar que apenas à temperatura de 50 e 55 °C o óleo girassol<sub>spray</sub> apresentou um tempo de estabilidade superior ao óleo de girassol em estudo. De forma a validar estes resultados, seria imprescindível aumentar a repetibilidade de amostras.

Com base na tabela XXXVI determinou-se a média, a mediana e o desvio-padrão das diferenças observadas nos logaritmos de tempos de estabilidade entre os dois óleos e efectuou-se a previsão da estabilidade do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura ambiente, considerando que o óleo de girassol apresenta um tempo de vida útil de 18 meses.

Os resultados desta previsão são apresentados na tabela seguinte (tabela XXXVII).

**Tabela XXXVII** – Previsão do tempo de estabilidade do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura ambiente.

		log <sub>TE</sub>	TE (h)	TE (meses)
Média	0,0752	4,0432 <sup>(a)</sup>	11045,87	15
Mediana	0,0760	4,0424 <sup>(b)</sup>	11025,54	15
Desvio-Padrão	0,0263	4,0169 – 4,0695 <sup>(c)</sup>	10396,81 – 11735,46	14 – 16

(a)  $4,1184 - 0,0752 = 4,0432$  ; (b)  $4,1184 - 0,0760 = 4,0424$  ; (c) O intervalo foi definido mediante a aplicação do desvio-padrão à média/mediana das diferenças observadas no log<sub>TE</sub> (4,0432/4,0424) dos dois óleos

A tabela XXXVII sugere que o óleo girassol<sub>spray</sub> apresenta um tempo de estabilidade de 14 a 16 meses, inferior à do óleo de girassol em estudo (18 meses). Este resultado sugere que o contacto do oxigénio com o óleo influencia a estabilidade do mesmo. Por outro lado, a menor quantidade de óleo girassol<sub>spray</sub> no interior da embalagem (250 mL) poderá também ser um factor determinante. No entanto, de forma a confrontar estes resultados, seria imprescindível repetir o estudo efectuado no ensaio 1 para este óleo.

## IV. Conclusões

O ensaio 1 permitiu concluir que:

- À temperatura ambiente e nas condições do ensaio o óleo de girassol em estudo apresentou uma estabilidade oxidativa superior, seguindo-se o óleo de amendoim e posteriormente, o óleo de soja. Verificou-se que a avaliação organoléptica (aroma e sabor) foi determinante na definição do tempo de estabilidade destes óleos. O óleo de girassol e o óleo de amendoim apresentaram uma estabilidade muito semelhante. No entanto, os sinais de ranço acentuado surgiram aos 18 meses num maior número de amostras no óleo de amendoim, o que sugere uma estabilidade menor, face ao óleo de girassol em estudo;
- Com o intuito de validar os resultados obtidos, seria fundamental garantir uma repetibilidade de amostras superior à que foi usada, através da realização de novos ensaios, considerando condições experimentais semelhantes e recorrendo à determinação da totalidade dos parâmetros analíticos referidos para cada um dos óleos refinados. Por outro lado, seria necessário analisar em detalhe os resultados e fazer a rastreabilidade a lotes, diferenciando lotes com base na sua proveniência (refinaria), nas condições de refinação e tendo em conta o perfil de ácidos gordos de cada óleo refinado;
- No sentido de complementar a informação dada pelos parâmetros analíticos avaliados neste ensaio, seria interessante determinar o índice de *p*-anisidina e o valor Totox que indica o valor de oxidação total de uma amostra usando o índice de peróxidos e o índice de *p*-anisidina.

O ensaio 2 permitiu concluir que:

- Com base nos parâmetros analíticos avaliados (índice de peróxidos, acidez e coeficientes de extinção), à temperatura de 42 ° C o óleo de girassol apresentou um tempo de estabilidade superior ao óleo girassol<sub>spray</sub>, o que não se verificou à temperatura de 50 e 55 °C;
- Com base na avaliação do aroma e do sabor, o óleo de girassol em estudo apresentou uma estabilidade superior, uma vez que, os sinais de ranço acentuado não foram notáveis ao longo de todo o ensaio, o que não se verificou no óleo girassol<sub>spray</sub>;
- A presença de oxigénio no espaço de cabeça da embalagem de óleo girassol<sub>spray</sub> influenciou substancialmente as características organolépticas do mesmo, sugerindo uma estabilidade inferior;
- Com o intuito de validar os resultados obtidos, seria fundamental garantir uma repetibilidade de amostras superior à que foi usada ( $n = 2$ ), através da realização de novos ensaios. Neste sentido, seria imprescindível reunir uma quantidade de garrafas superior, do mesmo lote, de forma a

garantir um número de amostras superior em cada recolha da estufa, consoante a periodicidade definida para cada temperatura de ensaio.

O ensaio 3 permitiu concluir que:

- O tempo de estabilidade do óleo de girassol foi superior ao do óleo girassol<sub>spray</sub>, uma vez que, os tempos de estabilidade médios obtidos a cada uma das temperaturas (120, 110, 100, 90, 80 e 70 °C) foram sempre superiores;
- A previsão do tempo de estabilidade à temperatura ambiente evidenciou um resultado muito próximo em ambos os óleos (aproximadamente 4 meses), muito inferior ao resultado obtido no ensaio 1 para o óleo de girassol (18 meses);
- Com o intuito de validar os resultados obtidos, seria fundamental garantir uma repetibilidade de amostras superior à que foi usada e uma gama de temperaturas mais alargada, fundamentalmente, inferiores a 70 °C.

Considerando os resultados obtidos nos 3 ensaios conclui-se que:

- O óleo de amendoim apresentou um tempo de vida útil de 18 meses e o óleo de soja de 16 meses;
- O óleo de girassol apresentou um tempo de vida útil de 18 meses e o óleo girassol<sub>spray</sub> entre 14 a 16 meses;
- Concluiu-se que os estudos efectuados à temperatura ambiente são mais adequados para a previsão do tempo de vida útil dos óleos refinados, uma vez que, nos ensaios em que é provocada uma degradação mais rápida dos óleos há alteração dos mecanismos de oxidação influenciando os resultados dessa previsão. Neste sentido, com o intuito de validar o tempo estabilidade do óleo girassol<sub>spray</sub> deverão ser efectuados estudos à temperatura ambiente, considerando condições experimentais semelhantes às do ensaio 1;
- Verificou-se que a estabilidade oxidativa de cada óleo refinado pode ser descrita por modelos que permitem uma estimativa do tempo de vida útil, a partir da determinação do índice de peróxidos, da acidez e das absorvâncias, da avaliação organoléptica e dos tempos de estabilidade obtidos no *Rancimat*.



## V. Referências bibliográficas

ANDREOU, A., FEUSSNER, I. (2009) – *Lipoxygenases: Structure and reaction mechanism*. Phytochemistry. pp. 1504 – 1510. Vol. 70. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942209002015>. Acedido a 1 de Março de 2011.

ALLEN, J.C., HAMILTON, R.J. (1994) – *Rancidity in Foods*. Third edition. An Aspen Publication. Disponível em: [http://books.google.com.br/books?hl=pt-PT&lr=&id=lcMgZHWIRUsC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+Rancidity+in+Foods&ots=MWu3WvEqcg&sig=3WLu9Az6\\_xRZoJ-tpRVpg9PQLRo#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?hl=pt-PT&lr=&id=lcMgZHWIRUsC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+Rancidity+in+Foods&ots=MWu3WvEqcg&sig=3WLu9Az6_xRZoJ-tpRVpg9PQLRo#v=onepage&q&f=false). Acedido a 28 de Fevereiro de 2011.

ANTONIASI, R. (2001) – *Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras*. Curitiba. Vol. 19. Nº 2. pp. 353-380. B.CEPPA. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/40650053/ANTONIASI>. Acedido a 28 de Fevereiro de 2011.

AOCS RECOMMENDED PRACTICE Cg 2-83 (1989) – *Flavor Panel Evaluation of Vegetable Oils*. Sampling and analysis of commercial fats and oils. Revised in 1992. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Fourth Edition.

BERTHIAUME, D., TREMBLAY, A. (2006) – *Study of the Rancimat Test Method in Measuring the Oxidation Stability of Biodiesel Ester and Blends*. Oleotek. Disponível em: <http://www.technopoletford.ca/FichiersUpload/Softsystem/NRCAN-OLEOTEK-StudyoftheRancimatTestMethodinMeasuringtheOxidationStabilityofBiodieselEstersandBlends.pdf>. Acedido a 3 de Março de 2011.

BOCKISCH, M. (1998) – *Fats and Oils Handbook*. AOCS Press. pp. 53 – 70, 102, 360 – 528, 613 – 711.

BOSKOU, D. (1998) – *Química Y Tecnología del aceite de oliva*. 1ª Edição. AMV ediciones. MUNDPRENSA. Madrid. pp. 119 – 124.

CHAKRABARTY, M.M. (2003) – *Chemistry and Technology of Oils and Fats*. Allied Publishers Pvt. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=ccVAA0eVgkMC&printsec=frontcover&hl=pt-PT#v=onepage&q&f=false>. Acedido a 28 de Fevereiro de 2011.

CHIA MING MACHINERY CO., LTD. (s.d.) – *Turnkey Project Planning*. Disponível em: <http://www.cm-pet.com.tw/services.htm>. Acedido a 21 de Março de 2011.

CHOE, E., MIN, D.B. (2006) – *Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation*. Food Science and Food Safety. pp. 169 – 186. Vol. 5. Online Library. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x/full>. Acedido a 21 de Março de 2011.

CHOE, E, MIN, D.B. (2009) – *Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods*. Food Science and Food Safety. pp. 345 – 358. Vol. 8. Online Library. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2009.00085.x/full>. Acedido a 21 de Março de 2011.

CODEx STAN 210-1999 (2009) – *Codex standard for named vegetable oils*.

COMANDINI, P., VERARDO, V., MAIOCCHI, P., CABONI, M.F. (2009) – *Accelerated oxidation: Comparative study of a new reactor with oxidation stability instrument*. European Journal of Lipid Science and Technology. pp. 933 – 940. Vol. 111. Nº 9. Online Library. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200900009/abstract>. Acedido a 14 de Março de 2011.

CQ (2010) – *Método Laboratorial: Análise sensorial de óleos vegetais refinados*. Sovena.

CRAPISTE, G.H., BREVEDAN, M.I.V., CARELLI, A.A. (1999) – *Oxidation of sunflower oil during storage*. Journal of the American Oil Chemists' Society. pp. 1437 – 1443. Vol. 76. Nº 12. Springerlink. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/uu77w2834n34651p/>. Acedido a 1 de Março de 2011.

DECRETO-LEI Nº 106/2005 – Diário da República, I Série-A. Nº 123 – 29 de Agosto de 2005. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

DECRETO-LEI Nº 560/1999 – Diário da República, I Série-A. Nº 293 – 18 de Dezembro de 1999. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.

DENISE, J. (1996) – *Oils & Fats: Manual. Properties, Production, Applications*. Vol. 2. Ed. TEC & DOC. Paris. pp. 807 – 895.

FARHOOSH, R. (2007) – *The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil*. Journal of the American Oil Chemists' Society. pp. 205 – 209. Vol. 84. Nº 3. Springerlink. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/p86x4pj818uvh73k/>. Acedido a 11 de Maio de 2011.

FOX, N.J., STACHOWIAK, G.W. (2006) – *Vegetable oil-based lubricants: A review of oxidation*. pp. 1035 – 1046. Vol. 40. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6V57-4MFKDDN-1&\\_user=10&\\_coverDate=07%2F31%2F2007&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=gateway&\\_origin=gateway&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_searchStrId=1679342575&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=d908d9a716152a98bcfb79e57413b173&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V57-4MFKDDN-1&_user=10&_coverDate=07%2F31%2F2007&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1679342575&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=d908d9a716152a98bcfb79e57413b173&searchtype=a). Acedido a 14 de Março de 2011.

FREGA, N., MOZZON, M., LERCKER, G. (1999) – *Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil*. Journal of the American Oil Chemists' Society. pp. 325 – 329. Vol. 76. Nº 3. Springerlink. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/n21425177h8142r7/>. Acedido a 1 de Março de 2011.

FREUND, J.E. (2004) – *Estatística Aplicada: Economia, Administração e Contabilidade*. 11ª edição. Bookman. ARTMED, S.A. Disponível em: <http://www.google.com/books?hl=pt-PT&lr=&id=oNrBvDGFf-EC&oi=fnd&pg=PA15&dq=significado+desvio+padrao%2Bestatistica&ots=Gqy8GhXGLW&sig=oa6CWoXQBARC7lvG6tOFyDEot54#v=onepage&q&f=false>. Acedido 18 de Março de 2010.

GERTZ, C., KLOSTERMANN, S., KOCHHAR, S.P. (2000) - *Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature*. Eur. J. Lipid Sci. Technol. pp. 543 – 551. Vol. 102. Online Library. Disponível em: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1438-9312\(200009\)102:8/9%3C543::AID-EJLT543%3E3.O.CO;2-V/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1438-9312(200009)102:8/9%3C543::AID-EJLT543%3E3.O.CO;2-V/abstract). Acedido a 4 de Março de 2011.

GRAILLE, J. (2003) – *Lipides et corps gras alimentaires*. Sciences et techniques agroalimentaires. Edition TEC & DOC. Paris. pp. 52 – 74.

GUNSTONE, F.D. (2004) – *The Chemistry of oils and fats: Sources, Composition, Properties and Uses*. CRC Press. pp. 23 – 49, 150 – 171.

GUZMAN, R., TANG, H., SALLEY, S., SIMON, K.Y. (2009) – *Synergistic Effects of Antioxidants on the Oxidative Stability of Soybean Oil-and Poultry Fat-Based Biodiesel*. J. Am. Oil Chem. Soc. Pp. 459 – 467. Vol. 86. Springerlink. AOCS. Disponível em: [http://www.eng.wayne.edu/user\\_files/414/file/Quick\\_Upload/Synergistic%20Effects\\_Rhet.pdf](http://www.eng.wayne.edu/user_files/414/file/Quick_Upload/Synergistic%20Effects_Rhet.pdf). Acedido a a 4 de Março de 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA (2011) – *Consumo humano de gorduras e óleos vegetais brutos per capita (kg/hab.) por Tipo de gordura e óleos vegetais; Anual*. Disponível em: [http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&indOcorrCod=0000172&contexto=bd&selTab=tab2](http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000172&contexto=bd&selTab=tab2). Atualizado a 25 de Fevereiro de 2011. Acedido a 30 de Maio de 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTATÍSTICA (s.d.) – *Hábitos alimentares dos Portugueses alteram-se*. Disponível em: [http://alea-estp.ine.pt/html/actual/pdf/actualidades\\_41.pdf](http://alea-estp.ine.pt/html/actual/pdf/actualidades_41.pdf). Acedido a 30 de Maio de 2011.

IQBAL, S., BHANGER, M.I. (2005) - *Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage*. Food Chemistry. pp. 246 – 254. Vol. 100. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605008630>. Acedido a 4 de Março de 2011.

KANNER, J., ROSENTHAL, I. (1992) – *An assessment of lipid oxidation in foods*. International Union of Pure and Applied Chemistry. Commission on food chemistry. Commission on oils, fats and derivatives. pp. 1959 – 1964. Vol. 64. Nº 12. Disponível em: <http://www.iupac.org/publications/pac/1992/pdf/6412x1959.pdf>. Acedido a 26 de Fevereiro de 2011.

LÄUBLI, M.W., BRUTTEL, P.A. (1986) - *Determination of the Oxidative Stability of Fats and Oils: Comparison between the Active Oxygen Method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat Method*. Journal of the American Oil Chemists' Society. pp. 792 – 795. Vol. 63. Nº 6. Springerlink. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/m35p238681l15347/>. Acedido a 1 de Março de 2011.

MANN, J.; TRUSWELL, A.S. (2002) – *Essentials of Human Nutrition*. Second Edition. Oxford. University Press. Disponível em: <http://www.doadmc.pk/e-books/nutrition/Essentials-of-Human-Nutrition.pdf>. Acedido a 8 de Junho de 2011.

MOURE, A., CRUZ, J.M., FRANCO, D., *et al* (2001) – *Natural antioxidants from residual sources*. Food Chemistry. pp. 145 – 171. Vol. 72. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814600002235>. Acedido a 14 de Março de 2011.

NP 961 (2004) – *Gorduras e óleos Alimentares: Óleo de Girassol – Definição, Características e Acondicionamento*. Termo de homologação nº 11/2004 de 2004-02-02. Edição: Julho de 2004. Instituto Português da Qualidade.

NP 970:1986 (1986) – *Gorduras e óleos comestíveis: Absorvâncias no ultravioleta*. DR III. Série nº 191.

NP 1539 (2004) – *Gorduras e óleos Alimentares: Óleo de Soja – Definição, Características e Acondicionamento*. Termo de homologação nº 23/2004 de 2004-03-09. Edição: Julho de 2004. Instituto Português da Qualidade.

NP EN ISO 660:2002 (2002) – *Óleos e gorduras animais e vegetais: Determinação do índice de acidez e da acidez (ISO 660:1999)*. Termo de homologação nº 323/2002 de 2002-12-04. Edição: Julho de 2003. Versão Portuguesa da EN ISO 660:1999. Instituto Português da Qualidade.

NP EN ISO 3960:2004 (2004) – *Óleos e gorduras de origem animal e vegetal: Determinação do índice de peróxido (ISO 3960:1998)*. Termo de homologação nº 8/2004 de 2004-01-22. Edição: Maio de 2004. Versão Portuguesa da EN ISO 3960:2000. Instituto Português da Qualidade.

PARDAUIL, J.J.R., SOUZA, L.K.C., MOLFETTA, F.A., *et al* (2011) - *Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area*. Bioresource Technology. pp. 5873 – 5877. Vol. 102. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6V24-524WF2B-&\\_user=10&\\_coverDate=02%2F10%2F2011&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=gateway&\\_origin=gateway&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_searchStrId=1679256633&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=40aa43f766be8abad3e3cd59a8377a11&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V24-524WF2B-&_user=10&_coverDate=02%2F10%2F2011&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1679256633&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=40aa43f766be8abad3e3cd59a8377a11&searchtype=a). Acedido a 14 de Março de 2011.

POLVILHO, M.M, RUIZ, G.M., DOBARGANES, M.C. (2004) – *Oxidative Stability of Sunflower Oils Differing in Unsaturation Degree During Long-Term Storage at Room Temperature*. Journal of the American Oil Chemists' Society. pp.577 – 583. Vol. 81. Springerlink. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/g43p1q7862mq8j8m/>. Acedido a 21 de Março de 2011.

PRZYBYLSKI, R., ZAMBIAZI, R.C. (2000) – *Predicting oxidative stability of vegetable oils using neural network system and endogenous oil components*. Journal of the American Oil Chemists' Society. pp. 925 – 932. Vol. 77. Nº 9. Springerlink. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/p478765294qh1111/>. Acedido a 1 de Março de 2011.

RISCH, S.J. (2009) – *Food Packaging History and Innovations*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. pp. 8089 – 8092. ACS Publications. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf900040r>. Acedido a 15 e Março de 2011.

RUIZ, G.M., POLVILLO, M.M., VELASCO, J., *et al* (2008) - *Formation of oxidation compounds in sunflower and olive oils under oxidative stability index conditions*. European Journal of Lipid Science and Technology. pp. 465 – 471. Vol. 110. Nº5. Online Library. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.200700246/abstract>. Acedido a 14 de Março de 2011.

SACCHI, R., SAVARESE, M., REGNO, A.D., *et al* (2007) – *Shelf Life of Vegetable Oils Bottled in Different Scavenging: Polyethyleneterephthalate (PET) Containers*. Packaging Technology and Science. pp. 269 – 277. Vol. 21. Online Library. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pts.801/abstract>. Acedido a 15 e Março de 2011.

SEQUEIRA, F.N.M.M. (2009) – *Envelhecimento de sumos e refrigerantes. Efeito da embalagem no perfil aromático e teor de ácido ascórbico*. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa.

SHAKHASHIRI (2008) – *Fats & Oils*. General Chemistry. Disponível em: <http://scifun.chem.wisc.edu/che>

mweek/pdf/fats&oils.pdf. Acedido a 3 Março de 2011.

SILVA, F.A.M., BORGES, M.F.M., FERREIRA, M.A. (1999) – *Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante*. Química Nova. Vol. 22. Nº 1. Scielo. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40421999000100016&script=sci\\_arttext&lng=in](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40421999000100016&script=sci_arttext&lng=in).

Acedido a 1 de Março de 2011.

SIRACUSA, V., ROCCULI, P., ROMANI, S., *et al* (2008) – *Biodegradable polymers for food packaging: a review*. Food Science & Technology. pp. 634 – 643. Vol. 19. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224408002185>. Acedido a 15 de Março de 2011.

SMITH, S.A., KING, R.E., MIN, D.B. (2006) - *Oxidative and thermal stabilities of genetically modified high oleic sunflower oil*. Food Chemistry. pp. 1208 – 1213. Vol. 102. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T6R-4KVXHW2-5&\\_user=10&\\_coverDate=12%2F31%2F2007&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=gateway&\\_origin=gateway&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_searchStrId=1679320097&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=dfc9d5e4100f239e43a4c53289f596d7&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T6R-4KVXHW2-5&_user=10&_coverDate=12%2F31%2F2007&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1679320097&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=dfc9d5e4100f239e43a4c53289f596d7&searchtype=a). Acedido a 14 de Março de 2011.

TEJERO, I., LAFONT, A.G., LLUCH, J.M., ERIKSSON, L.A. (2004) – *Photo-oxidation of lipids by singlet oxygen: a theoretical study*. Chemical Physics Letters. pp. 336 – 342. Vol. 398. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009261404014861>. Acedido a 20 e Março de 2011.

ZHANG, Y., YANG, L., ZU, Y., *et al* (2009) – *Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage*. Food Chemistry. pp. 656 – 662. Vol. 118. Elsevier. ScienceDirect. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609006931>. Acedido a 4 de Março de 2011.

## Anexos

### ANEXO I – Metodologias de análise

#### 1. Determinação do índice de peróxidos

O índice de peróxidos foi determinado com base na NP EN ISO 3960:2004 relativa aos óleos e gorduras de origem animal e vegetal e que estabelece a metodologia de determinação do índice de peróxidos. A toma de ensaio (5 g), em solução de ácido acético e iso-octano, foi tratada com uma solução saturada de iodeto de potássio na proporção 3:2. Esta solução foi colocada a reagir durante um minuto na ausência de luz e posteriormente foi adicionada a 30 mL de água destilada e ao indicador (cozimento de amido). A quantidade de iodo libertada, resultante da decomposição do iodeto de potássio por acção dos peróxidos presentes, foi titulada com uma solução de tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01 M), agitando até ao ponto final da titulação que se caracteriza pela neutralização da tonalidade cinza violáceo, adquirindo-se a cor natural do óleo (NP EN ISO 3960:2004, 2004).

O índice de peróxidos (P), expresso em milimoles de oxigénio activo por quilograma, foi calculado pela equação seguinte (NP EN ISO 3960:2004, 2004):

$$P = \frac{1000 (V - V_0) c}{2 m}$$

onde,

V = volume da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  usado (mL)

$V_0$  = volume da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  usado na determinação do ensaio em branco (mL)

c = concentração exacta da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ( $\text{mol L}^{-1}$ )

m = massa da amostra (g)

#### 2. Determinação da acidez

A acidez foi determinada com base na NP EN ISO 660:2002 relativa aos óleos e gorduras animais e vegetais e que estabelece a metodologia de determinação do índice de acidez e da acidez. A toma de ensaio (20 g) foi dissolvida em 100 mL de uma mistura composta por éter dietílico e etanol a 95 % na proporção 1:1, previamente neutralizada com hidróxido de sódio (0,1 M). A titulação decorre na presença de 0,3 mL de solução de fenolftaleína, como indicador. A acidez é determinada pela titulação com hidróxido de sódio (NaOH 0,1 M), agitando até ao ponto final da titulação que se caracteriza pelo aparecimento de uma tonalidade rosa ténue, que indica o ponto de equivalência (NP EN ISO 660:2002, 2002).

A acidez, expressa em percentagem (massa / massa), foi determinada pela equação seguinte (NP EN ISO 660:2002, 2002):

$$V \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

onde,

V = volume da solução de NaOH usada (mL)

c = concentração exacta da solução de NaOH (mol L<sup>-1</sup>)

M = massa molar do ácido escolhido para expressão dos resultados (ácido oleico = 282 g / mol)

m = massa da amostra (g)

### 3. Análise por espectrofotometria no ultravioleta (U.V.)

A oxidação dos ácidos gordos insaturados potencia a formação de peróxidos (produtos primários da oxidação que absorvem radiação para um comprimento de onda de 230 nm) e o deslocamento das ligações duplas carbono-carbono, com a consequente formação de dienos conjugados, compostos que absorvem radiação para um comprimento de onda de 232 nm. No decurso da sua decomposição produzem-se compostos de natureza diversa (aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos, etc.) os quais são genericamente designados produtos secundários da oxidação. Estes compostos absorvem radiação para um comprimento de onda mais elevado, na gama dos 268 a 270 nm. Estas diferenças permitem diferenciar os estados de evolução oxidativa.

As absorvâncias foram determinadas com base na NP 970:1986. A toma de ensaio (0,05 g), foi dissolvida no solvente iso-octano e submetida ao espectrofotómetro que executa a medição das extinções no ultravioleta nos comprimentos de onda definidos, usando como referência as extinções do solvente puro utilizado. Os valores das absorvâncias são expressos em termos de extinção específica (extinção de uma solução de 1 g de óleo em 100 mL do solvente prescrito, para um percurso óptico de 1 cm), designado coeficiente de extinção (K). Os coeficientes de extinção, nos diferentes comprimentos de onda definidos (230, 232, 268 e 270 nm), foram determinados pela equação seguinte (NP 970:1986):

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \times s}$$

onde,

K<sub>λ</sub> = extinção específica no comprimento de onda λ

E<sub>λ</sub> = extinção medida no comprimento de onda λ

c = concentração da solução em g / 100 mL

s = espessura da tina em centímetros



No decorrer dos ensaios, “coeficiente de extinção (K)” será o termo utilizado para as leituras de absorvância dadas pelo espectrofotómetro, nos comprimentos de onda definidos.

#### 4. Avaliação organoléptica

A avaliação organoléptica do óleo foi efectuada com base na metodologia AOCS Recommended Practice Cg 2-83. Cerca de 10 mL (para a avaliação do sabor) ou 40 mL (para a avaliação do aroma) de cada amostra foram colocados num goblé de vidro, protegendo a amostra com um vidro de relógio. A avaliação do aroma do óleo foi efectuada à temperatura ambiente e à temperatura de 180 °C. Para se atingir esta temperatura, o goblé com a respectiva amostra protegida com o vidro de relógio foi colocado numa placa de aquecimento. Posteriormente o goblé foi retirado e agitado suavemente de forma a promover a libertação dos compostos voláteis (CQ, 2010).

Cada amostra foi classificada em termos de aroma e sabor de acordo com o seguinte critério (CQ, 2010):

**Tabela I** – Descrição da apreciação do aroma e sabor para cada classificação considerada.

**Fonte:** CQ, 2010.

Classificação	Descrição da apreciação organoléptica	
Aroma	1	Aroma estranho e desagradável
	2	Aroma a ranço
	3	Aroma característico da semente perceptível
	4	Característico, ligeiro aroma característico da semente
	5	Característico, praticamente inodoro, isento de aromas estranhos e de ranço a 20 °C e isento e cheiros anormais quando aquecido a 180 °C.
Sabor	1	Sabor estranho e desagradável ao paladar
	2	Sabor acentuado a ranço
	3	Sabor característico da semente perceptível
	4	Ligeiro sabor característico da semente, isento de sabores estranhos e de ranço
	5	Insípido, isento de sabores estranhos e de ranço

## ANEXO II – Evolução oxidativa do óleo de girassol à temperatura ambiente

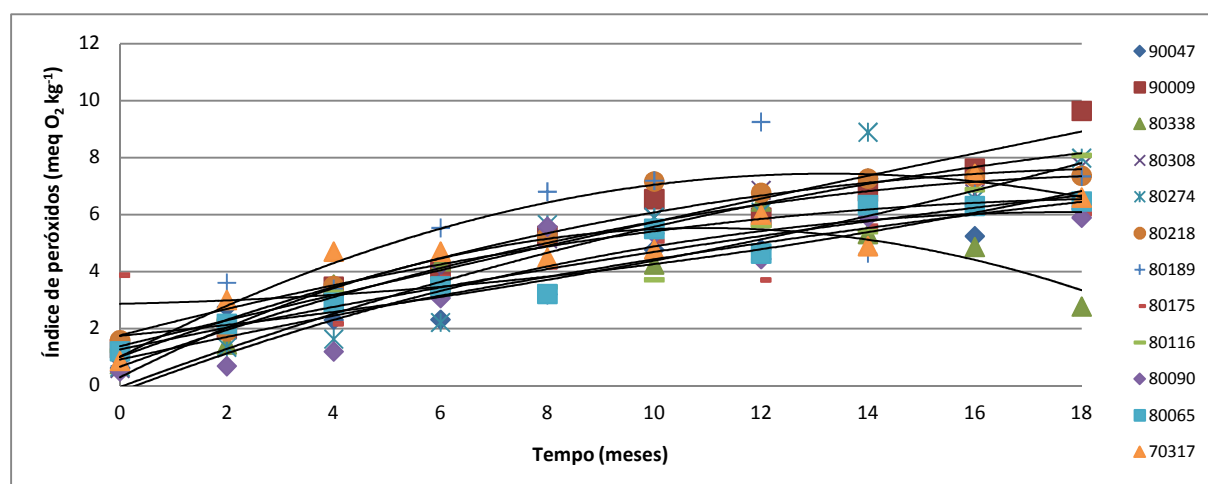
A tabela seguinte (tabela I) representa a evolução do índice de peróxidos de 12 lotes de óleo de girassol ao longo de 18 meses e a identificação de *outliers* que se destacam claramente nesta evolução. Estes valores podem estar associados às características intrínsecas de cada lote de óleo, a eventuais erros analíticos associados aos diversos operadores de laboratório que determinam o parâmetro em análise, ou, eventualmente, devido às inadequadas condições de armazenamento das amostras durante todo o período de análise.

**Tabela I** – Evolução do índice de peróxidos de 12 lotes de óleo de girassol.

Lotes		Mês de análise									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
L1	90047	0,61	2,75	2,30	2,31	3,20	4,76	4,78	7,26	5,24	6,20
L2	90009	1,30	1,98	3,46	4,00	5,25	6,54	5,89	6,81	7,61	9,64
L3	80338	0,75	1,44	3,54	4,36	5,41	4,25	6,46	5,32	4,86	2,77
L4	80308	0,60	2,16	2,90	3,91	5,15	5,90	6,85	6,33	6,73	7,70
L5	80274	0,65	1,34	1,63	2,21	5,65	5,90	6,08	8,89	6,54	7,98
L6	80218	1,59	1,90	3,49	3,37	5,24	7,16	6,76	7,26	7,31	7,36
L7	80189	0,68	3,60	3,39	5,53	6,80	7,19	9,25	4,64	7,20	7,34
L8	80175	3,87	2,08	2,17	3,80	4,17	5,07	3,70	5,59	7,14	6,03
L9	80116	1,22	2,30	3,27	3,43	3,46	3,71	5,62	5,40	6,87	8,08
L10	80090	0,49	0,68	1,19	3,07	5,57	5,34	4,44	5,91	6,31	5,89
L11	80065	1,20	2,16	2,90	3,48	3,21	5,50	4,63	6,33	6,30	6,46
L12	70317	0,86	3,00	4,70	4,70	4,50	4,78	6,00	4,89	7,43	6,60

Identificação de *outliers*

Graficamente, apesar dos *outliers* identificados, é possível verificar que a evolução dos índices de peróxidos ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial (figura 1).



**Figura 1** – Evolução do índice de peróxidos de 12 lotes de óleo de girassol.

Com o intuito de analisar as implicações que esta evolução oxidativa apresenta sobre a sua avaliação organoléptica, ao longo dos 18 meses, diversos lotes foram avaliados e classificados em termos de aroma e sabor, com uma periodicidade de 2 meses. A tabela seguinte (tabela II) representa a evolução do aroma e do sabor de 10 lotes do óleo de girassol em estudo.

**Tabela II** – Evolução do aroma e do sabor de 10 lotes de óleo de girassol.

Lotes		Mês de análise																			
		0		2		4		6		8		10		12		14		16		18	
		A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S
L2	90009	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
L3	80338	4	4	4	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
L4	80308	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
L5	80274	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
L6	80218	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
L7	80189	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3
L8	80175	4	4	4	4	4	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
L9	80116	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2
L11	80065	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
L12	70317	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3

A: aroma; S: sabor

Pela análise da tabela II, é possível verificar que, a generalidade dos lotes mantém a classificação 4 (aroma característico, ligeiro aroma característico da semente; ligeiro sabor característico da semente, isento de sabores estranhos e de ranço) até ao 4º mês de análise. Após o 10º mês de análise, todos os lotes apresentam a classificação 3 (aroma/sabor característico da semente perceptível), à exceção do lote L6, L7 e L9 (aroma) e L6 e L9 (sabor), que surge com a classificação 2 (aroma a ranço; sabor acentuado a ranço).

Desta análise conclui-se que, apesar da evolução do índice de peróxidos registada, a generalidade dos lotes apresenta uma boa classificação organoléptica ao longo dos 18 meses.

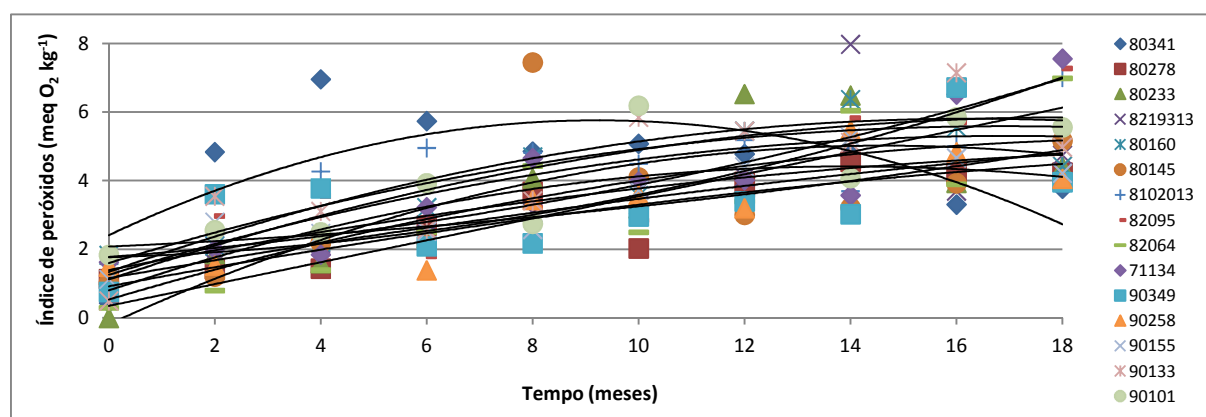
### ANEXO III – Evolução oxidativa do óleo de soja à temperatura ambiente

A tabela seguinte (tabela I) representa a evolução do índice de peróxidos de 15 lotes de óleo de soja ao longo de 18 meses.

**Tabela I** – Evolução do índice de peróxidos de 15 lotes de óleo de soja.

Lotes		Mês de análise									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
S1	90349	0,76	3,61	3,78	2,09	2,18	2,96	3,40	3,03	6,72	3,96
S2	90258	1,50	1,53	2,48	1,39	3,45	3,59	3,20	5,48	4,84	4,06
S3	90155	1,13	2,80	2,47	2,53	2,58	3,72	4,41	5,27	4,67	4,22
S4	90133	0,50	3,55	3,11	2,59	3,42	5,85	5,45	5,12	7,15	4,98
S5	90101	1,84	2,56	2,50	3,93	2,75	6,19	8,30	4,08	5,85	5,56
S6	80341	0,44	4,84	6,96	5,74	4,86	5,08	4,78	4,80	3,31	3,77
S7	80278	1,14	1,42	1,44	2,70	3,68	2,03	3,97	4,56	4,24	4,24
S8	80233	0,00	1,87	1,60	2,33	4,07	3,20	6,53	6,49	3,94	4,42
S9	8219313	0,74	1,60	2,18	2,44	3,07	3,30	4,11	7,98	3,70	4,75
S10	80160	1,83	2,10	2,22	3,22	4,70	3,57	5,45	6,37	5,56	4,43
S11	80145	1,03	1,21	2,19	2,15	7,45	4,10	3,01	3,22	3,93	5,17
S12	8102013	0,69	2,38	4,27	4,96	4,82	4,50	5,19	3,70	5,01	7,01
S13	82095	0,53	2,98	3,56	1,80	3,22	2,85	3,58	5,83	5,70	7,28
S14	82064	0,30	0,80	1,40	2,51	4,43	2,50	3,40	6,05	3,90	6,99
S15	71134	1,63	2,00	1,85	3,23	4,66	3,98	4,02	3,58	6,52	7,56

Pela análise da tabela é possível verificar a instabilidade de resultados, no entanto, apresentam na generalidade uma tendência crescente ao longo dos 18 meses, que se traduz numa curva polinomial (figura 1). Esta variabilidade pode estar associada às características intrínsecas de cada lote de óleo, nomeadamente, aos perfis de ácidos gordos, às condições de refinação de cada lote, ou, eventualmente, devido às inadequadas condições de armazenamento das amostras durante todo o período de análise.



**Figura 1** – Evolução do índice de peróxidos de 15 lotes de óleo de soja.

Com o intuito de avaliar de forma mais abrangente a evolução dos compostos da oxidação, quer primários como secundários, efectuou-se a determinação dos coeficientes de extinção por espectrofotometria no ultravioleta a dois comprimentos de onda distintos: 230 e 270 nm. Esta análise foi efectuada em dez lotes do mesmo óleo, com uma periodicidade de 2 meses, iniciando-se no mês de produção e embalagem do mesmo.

A tabela seguinte (tabela II) representa a evolução dos compostos primários e secundários da oxidação de 10 lotes de óleo de soja ao longo de 18 meses.

**Tabela II** – Evolução dos compostos primários e secundários da oxidação de 15 lotes de óleo de soja.

Mês	$\lambda$ (nm)	Lotes									
		S2	S3	S4	S7	S8	S9	S12	S13	S14	S15
0	230	4,4	4,1	4,0	4,1	4,1	5,1	5,0	4,7	4,2	4,6
	270	2,1	1,9	1,9	2,1	1,9	2,0	1,6	2,1	1,7	1,6
2	230	4,4	4,0	4,0	4,2	4,2	5,2	4,9	4,8	4,4	4,6
	270	2,2	1,8	2,0	2,2	2,0	2,1	1,4	2,2	1,9	1,6
4	230	4,5	4,0	4,1	4,8	4,4	5,3	5,0	4,9	4,5	4,6
	270	2,2	1,8	2,0	2,7	1,7	2,2	1,6	2,2	2,0	1,5
6	230	4,5	4,0	4,1	5,0	4,5	5,3	5,1	5,0	4,6	4,7
	270	2,2	1,9	2,1	2,4	1,7	2,3	1,7	2,3	2,1	1,6
8	230	4,5	4,0	4,2	5,1	4,8	5,4	5,2	5,1	4,7	5,0
	270	2,3	1,9	2,1	2,8	1,9	2,3	1,8	2,4	2,2	1,8
10	230	4,5	4,1	4,3	4,9	4,7	5,5	5,3	4,6	3,9	5,1
	270	2,3	2,0	2,2	2,9	1,9	2,4	1,9	2,1	1,5	1,9
12	230	4,7	4,2	4,4	5,1	4,7	5,5	5,3	4,6	4,0	5,2
	270	2,2	2,0	2,1	2,9	2,0	2,5	1,6	2,1	1,6	2,0
14	230	4,7	4,7	4,4	5,1	4,8	5,6	5,2	4,8	4,4	5,2
	270	2,1	2,1	2,1	3,0	2,1	2,5	1,6	2,2	1,8	2,2
16	230	4,7	4,5	4,4	5,2	5,0	5,7	5,3	4,9	4,6	5,0
	270	2,2	2,0	1,6	2,8	2,0	2,6	1,6	2,3	1,8	1,6
18	230	5,0	4,9	4,5	4,8	5,1	4,8	5,4	5,0	4,7	5,0
	270	2,4	2,0	1,8	2,5	2,0	2,1	1,7	2,5	2,0	1,6

A acidez do óleo de soja foi também avaliada ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, iniciando-se no mês de produção e embalagem do mesmo.

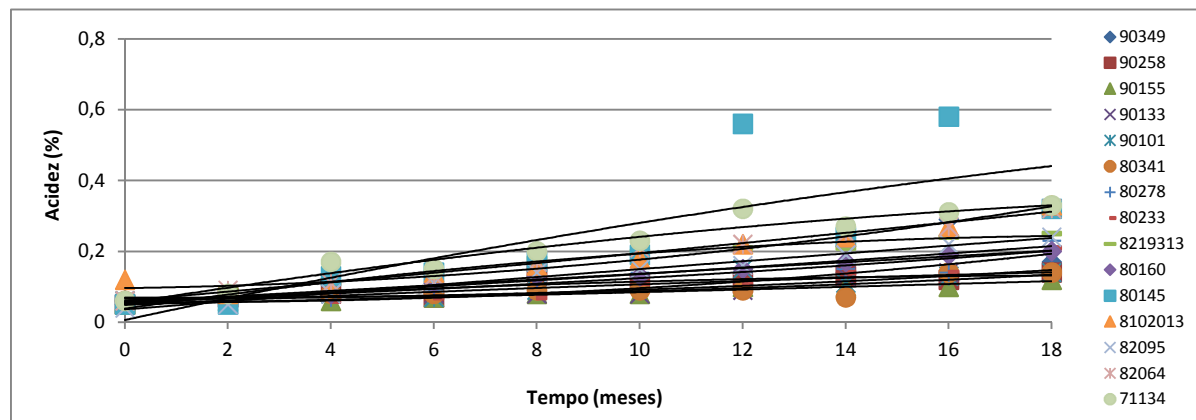
A tabela seguinte (tabela III) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de 15 lotes do referido óleo e a identificação de *outliers* que se destacam claramente nesta evolução. Estes valores podem estar associados a eventuais erros analíticos associados aos operadores de laboratório envolvidos no processo de determinação do parâmetro em análise.

**Tabela III** – Evolução da acidez de 15 lotes de óleo de soja.

Lotes		Mês de análise									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
S1	90349	0,05	0,07	0,09	0,11	0,13	0,11	0,14	0,14	0,29	0,17
S2	90258	0,05	0,07	0,09	0,07	0,14	0,11	0,11	0,13	0,12	0,14
S3	90155	0,05	0,06	0,06	0,07	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10	0,12
S4	90133	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,09	0,13	0,14	0,14
S5	90101	0,06	0,05	0,08	0,07	0,09	0,11	0,15	0,11	0,13	0,14
S6	80341	0,06	0,07	0,08	0,08	0,09	0,09	0,09	0,07	0,14	0,14
S7	80278	0,06	0,07	0,07	0,09	0,12	0,14	0,15	0,15	0,14	0,23
S8	80233	0,04	0,08	0,06	0,07	0,07	0,11	0,11	0,14	0,14	0,21
S9	8219313	0,03	0,09	0,11	0,14	0,18	0,20	0,21	0,21	0,24	0,25
S10	80160	0,06	0,07	0,08	0,11	0,13	0,13	0,15	0,17	0,19	0,20
S11	80145	0,05	0,05	0,13	0,14	0,17	0,19	0,56	0,24	0,58	0,32
S12	8102013	0,12	0,08	0,09	0,14	0,16	0,18	0,22	0,24	0,27	0,33
S13	82095	0,04	0,05	0,08	0,11	0,14	0,15	0,16	0,19	0,22	0,24
S14	82064	0,06	0,09	0,11	0,13	0,17	0,21	0,22	0,25	0,27	0,32
S15	71134	0,06	0,08	0,17	0,15	0,20	0,23	0,32	0,27	0,31	0,33

Identificação de outliers

Graficamente, apesar dos *outliers* identificados, é possível verificar que a evolução da acidez ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial (figura 2).

**Figura 2** – Evolução da acidez de 15 lotes de óleo de soja.

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, os 15 lotes foram avaliados e classificados em termos de aroma e sabor.

A tabela seguinte (tabela IV) representa a evolução destes parâmetros organolépticos dos lotes considerados.

**Tabela IV** – Evolução do aroma e do sabor de 15 lotes de óleo de soja.

Lotes		Mês de análise																			
		0		2		4		6		8		10		12		14		16		18	
		A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S
S1	90349	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	2	2
S2	90258	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	2
S3	90155	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
S4	90133	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
S5	90101	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
S6	80341	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	2	2
S7	80278	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	2	2
S8	80233	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2
S9	8219313	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2
S10	80160	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
S11	80145	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2
S12	8102013	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
S13	82095	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2
S14	82064	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S15	71134	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2

A: aroma; S: sabor

Pela análise da tabela IV, é possível verificar que, o aroma da generalidade dos lotes mantém a classificação 3 (aroma característico da semente perceptível) até ao 14º mês de análise. Após o 16º mês de análise, a classificação 2 é predominante (aroma a ranço). Comparando com a evolução do aroma obtida no óleo de girassol, o presente óleo surge com uma classificação inferior nos primeiros quatro meses, na generalidade dos lotes. No entanto, no óleo de girassol o aroma a ranço surge apenas em três lotes no 18º mês.

Relativamente à evolução do sabor, a tabela IV sugere que a generalidade dos lotes mantém a classificação 3 (sabor característico da semente perceptível) até ao 16º mês, a partir do qual, surge o sabor acentuado a ranço em todos os lotes (classificação 2), à excepção do lote S4 e S5. Da mesma forma, o presente óleo surge com uma classificação inferior nos primeiros quatro meses e aparece o sabor a ranço acentuado no 18º mês na generalidade dos lotes, o que não se verifica no óleo de girassol.

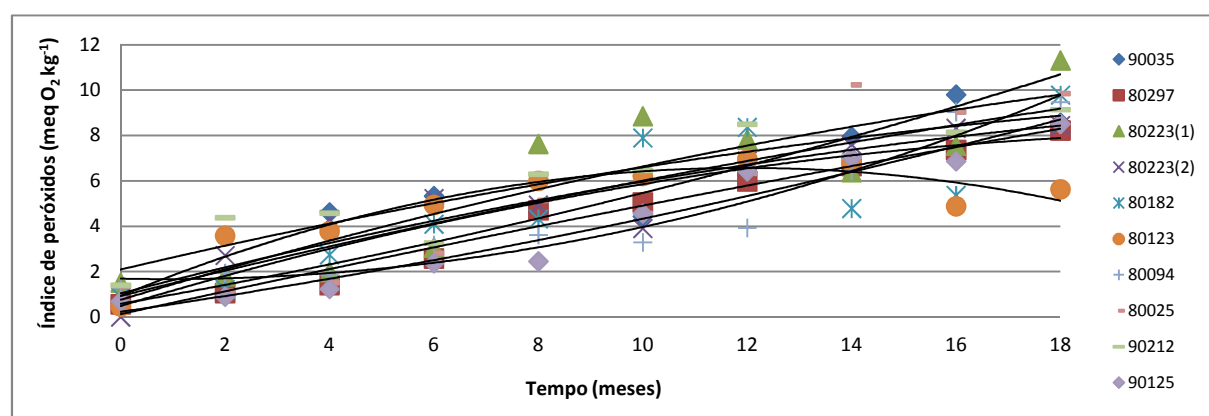
## ANEXO IV – Evolução oxidativa do óleo de amendoim à temperatura ambiente

A tabela seguinte (tabela I) representa a evolução do índice de peróxidos de 10 lotes de óleo de amendoim ao longo de 18 meses.

**Tabela I** – Evolução do índice de peróxidos de 10 lotes de óleo de amendoim.

Lotes		Mês de análise									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
A1	90212	1,40	4,38	4,58	3,27	6,30	6,47	8,5	7,09	8,14	9,14
A2	90125	0,69	0,89	1,23	2,37	2,45	4,56	6,42	7,03	6,86	8,51
A3	90035	0,71	1,09	4,61	5,33	4,63	4,43	6,39	7,95	9,80	8,57
A4	80297	0,56	1,05	1,41	2,58	4,70	5,05	5,97	6,66	7,36	8,22
A5	80223(1)	1,52	1,80	1,98	3,06	7,63	8,85	7,82	6,38	7,55	11,31
A6	80223(2)	0,00	2,71	4,30	5,22	4,93	3,90	6,88	7,60	8,32	8,44
A7	80182	0,88	1,21	2,74	4,09	4,32	7,89	8,36	4,78	5,36	9,78
A8	80123	0,46	3,58	3,78	4,94	6,00	6,22	6,95	6,80	4,88	5,63
A9	80094	1,29	1,94	1,84	3,18	3,62	3,29	3,93	6,44	9,04	9,47
A10	80025	1,37	1,13	1,51	2,81	5,14	4,56	6,34	10,24	9,04	9,85

Pela análise da tabela é possível verificar a instabilidade de resultados, no entanto, apresentam na generalidade uma tendência crescente ao longo dos 18 meses, que se traduz numa curva polinomial (figura 1). Esta variabilidade pode estar associada às características intrínsecas de cada óleo, nomeadamente, ao perfil de ácidos gordos de cada lote, às condições de refinação, ou, eventualmente, devido às inadequadas condições de armazenamento das amostras durante todo o período de análise.



**Figura 1** – Evolução do índice de peróxidos de 10 lotes de óleo de amendoim.

A acidez do óleo de amendoim foi também avaliada ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, iniciando-se no mês de produção e embalagem do mesmo.

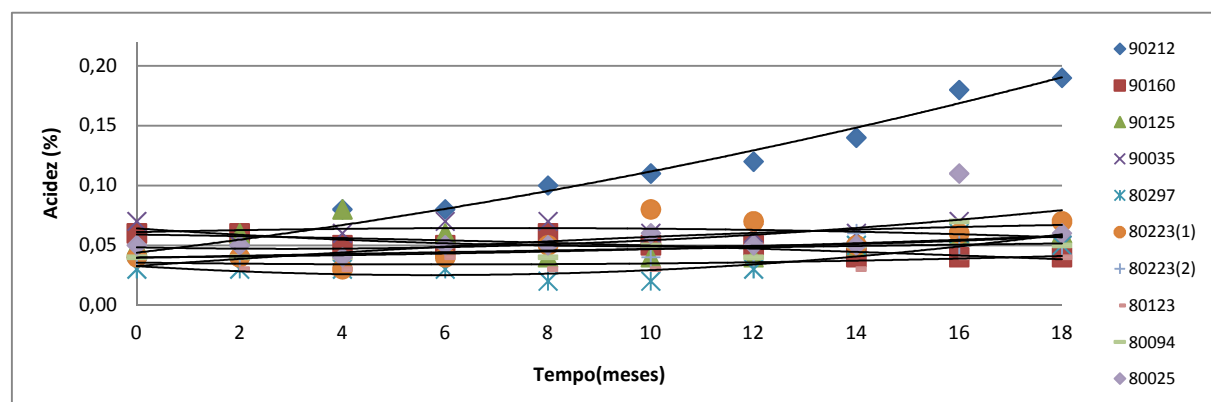


A tabela seguinte (tabela II) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de 10 lotes do referido óleo.

**Tabela II** – Evolução da acidez de 10 lotes de óleo de amendoim.

Lotes		Mês de análise									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
A1	90212	0,04	0,05	0,08	0,08	0,10	0,11	0,12	0,14	0,18	0,19
A2	90125	0,05	0,06	0,08	0,06	0,04	0,04	0,04	0,05	0,06	0,06
A3	90035	0,07	0,05	0,06	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,07	0,05
A4	80297	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,05	0,06	0,05
A5	80223(1)	0,04	0,04	0,03	0,04	0,05	0,08	0,07	0,05	0,06	0,07
A6	80223(2)	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04	0,06	0,05	0,05
A8	80123	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,05	0,03	0,04	0,04
A9	80094	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04	0,05	0,07	0,05
A10	80025	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,11	0,06
A11	90160	0,06	0,06	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04

Graficamente, é possível verificar que a evolução da acidez ao longo dos meses segue uma distribuição polinomial (figura 2).



**Figura 2** – Evolução da acidez de 10 lotes de óleo de amendoim.

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, ao longo dos 18 meses e com uma periodicidade de 2 meses, os 10 lotes foram avaliados e classificados em termos de aroma e sabor. A tabela seguinte (tabela III) representa a evolução destes parâmetros organolépticos dos lotes considerados.

**Tabela III** – Evolução do aroma e do sabor de 10 lotes de óleo de amendoim.

Lotes		Mês de análise															
		0		2		4		6		8		10		12		14	
		A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S	A	S

A1	90212	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
A2	90125	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
A3	90035	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
A4	80297	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2
A5	80223(1)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
A6	80223(2)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
A7	80182	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
A8	80123	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
A9	80094	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
A10	80025	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2

A: aroma; S: sabor

Pela análise da tabela III, é possível verificar que, a generalidade dos lotes mantém a classificação 3 (aroma característico da semente perceptível; sabor característico da semente perceptível) até ao 16º mês de análise. No 18º mês verificou-se que 50 % dos lotes já apresentavam a classificação 2 (aroma e sabor a ranço acentuado). Pontualmente, alguns lotes apresentaram um aroma e um sabor classificados com o nível 4.

Comparando com a evolução organoléptica obtida no óleo de girassol, o presente óleo, bem como o óleo de soja, surge com uma classificação inferior nos primeiros quatro meses, na generalidade dos lotes. No entanto, no óleo de girassol verificou-se que os efeitos da evolução oxidativa no aroma e no sabor do óleo apenas se verificaram após os 18 meses.

## ANEXO V – Evolução oxidativa do óleo de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 42 °C

Com o intuito de avaliar a evolução oxidativa do óleo de girassol e óleo girassol<sub>spray</sub> ocorrida à temperatura de 42 °C, procedeu-se à determinação do índice de peróxidos, dos coeficientes de extinção e da acidez de diversas amostras, pertencentes ao mesmo lote.

O facto de, amostras pertencentes ao mesmo lote e sujeitas às mesmas condições experimentais, apresentarem resultados ligeiramente desiguais poderá estar relacionado com o erro associado aos diversos operadores de laboratório envolvidos nas determinações de cada um dos parâmetros estabelecidos. Relativamente aos coeficientes de extinção no U.V., a variabilidade nos resultados poderá estar relacionada com o erro associado ao aparelho de laboratório usado na determinação dos (espectrofotómetro).

A tabela seguinte (tabela I) representa a evolução do índice de peróxidos verificada no ensaio decorrido à temperatura de 42 °C, ao longo de 84 dias, para o óleo de girassol.

**Tabela I** – Evolução do índice de peróxidos do óleo de girassol à temperatura de 42 °C.

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	IP médio (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
0	Branco	5,0451	0,20	0,40	<b>0,40</b>
1	A	5,0508	0,4	0,80	<b>0,70</b>
	B	6,5655	0,4	0,60	
3	A	5,5028	0,6	1,00	<b>1,15</b>
	B	5,6538	0,8	1,30	
7	A	5,0804	1,2	2,20	<b>2,40</b>
	B	5,1204	1,4	2,60	
10	A	5,1103	1,0	1,90	<b>1,75</b>
	B	5,3796	0,9	1,60	
14	A	5,0693	1,5	2,80	<b>2,70</b>
	B	5,4920	1,5	2,60	
21	A	7,1450	1,9	2,50	<b>2,65</b>
	B	5,0206	1,5	2,80	
35	A	5,1316	1,8	3,40	<b>3,60</b>
	B	5,4036	2,1	3,80	
49	A	5,3525	2,0	3,70	<b>3,65</b>
	B	5,1325	1,9	3,60	
70	A	5,4007	2,3	4,10	<b>3,90</b>
	B	6,0353	2,3	3,70	
77	A	5,0781	1,9	3,60	<b>3,60</b>
	-	-	-	-	
84	A	5,2762	2,5	4,50	<b>4,50</b>
	-	-	-	-	

IP: Índice de Peróxidos

Com o intuito de avaliar de forma mais abrangente a evolução dos compostos da oxidação, quer primários como secundários, efectuou-se a determinação dos coeficientes de extinção por espectrofotometria no ultravioleta a quatro comprimentos de onda distintos: 230, 232, 268 e 270 nm. A tabela seguinte (tabela II) representa a evolução dos compostos primários e secundários da oxidação das amostras de óleo de girassol.

**Tabela II – Evolução dos compostos primários e secundários da oxidação do óleo de girassol.**

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	Coeficientes de extinção (K)				Coeficientes de extinção médios (K)			
				K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>	K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>
0	Branco	0,0593	25	3,2	3,0	1,1	1,1	<b>3,2</b>	<b>3,0</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
1	A	0,0829	25	-	3,1	-	1,0	-	<b>3,2</b>	-	<b>1,0</b>
	B	0,0723	25	-	3,2	-	1,0				
3	A	0,0518	25	3,3	3,1	1,0	1	<b>3,3</b>	<b>3,1</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
	B	0,0577	25	3,3	3,1	0,9	0,9				
7	A	0,0588	25	3,1	3,3	1,1	1,1	<b>3,1</b>	<b>3,3</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	B	0,0700	25	3,1	3,2	1,0	1,0				
10	A	0,0561	25	3,2	3,4	1,1	1,1	<b>3,2</b>	<b>3,4</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	B	0,0524	25	3,1	3,3	1,1	1,1				
14	A	0,0645	25	3,2	3,4	1,1	1,1	<b>3,2</b>	<b>3,4</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	B	0,0585	25	3,2	3,4	1,1	1,1				
21	A	0,0722	25	3,4	3,5	0,9	0,9	<b>3,5</b>	<b>3,6</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	B	0,0613	25	3,5	3,6	1,3	1,3				
35	A	0,0678	25	3,2	3,4	1,1	1,1	<b>3,3</b>	<b>3,5</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	B	0,0538	25	3,3	3,5	1,1	1,1				
49	A	0,0695	25	3,5	3,7	1,1	1,1	<b>3,4</b>	<b>3,6</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	B	0,0785	25	3,3	3,5	1,1	1,1				
70	A	0,0705	25	3,3	3,5	1,1	1,1	<b>3,3</b>	<b>3,5</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	B	0,0725	25	3,3	3,5	1,1	1,1				
77	A	0,0815	25	3,1	3,3	1,0	1,0	<b>3,1</b>	<b>3,3</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
	-	-	-	-	-	-	-				
84	A	0,0571	25	3,5	3,7	1,1	1,1	<b>3,5</b>	<b>3,7</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
	-	-	-	-	-	-	-				

A acidez do óleo de girassol foi também avaliada ao longo dos 84 dias. A tabela seguinte (tabela III) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de cada uma das amostras.

**Tabela III – Evolução da acidez do óleo de girassol.**

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	Acidez (%)	Acidez média (%)
0	Branco	20,8972	0,2	0,03	<b>0,030</b>
1	A	20,8911	0,2	0,03	<b>0,030</b>
	B	20,0139	0,2	0,03	

3	A	20,2881	0,2	0,03	0,035
	B	21,3332	0,3	0,04	
7	A	20,1060	0,2	0,03	0,030
	B	20,2446	0,2	0,03	
10	A	22,2311	0,2	0,03	0,030
	B	20,5284	0,2	0,03	
14	A	20,2195	0,2	0,03	0,030
	B	20,0058	0,2	0,03	
21	A	20,3398	0,2	0,03	0,030
	B	20,0144	0,2	0,03	
35	A	20,2694	0,3	0,04	0,035
	B	20,7792	0,2	0,03	
49	A	20,3487	0,2	0,03	0,030
	B	20,0535	0,2	0,03	
70	A	20,7763	0,3	0,04	0,035
	B	20,9026	0,2	0,03	
77	A	20,2286	0,2	0,03	0,030
	-	-	-	-	
84	A	20,8732	0,3	0,04	0,040
	-	-	-	-	

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, algumas das amostras foram avaliadas e classificadas em termos de aroma e sabor. A tabela seguinte (tabela IV) representa a evolução destes parâmetros organolépticos.

**Tabela IV – Evolução do aroma e do sabor do óleo de girassol.**

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Aroma	Sabor
0	Branco	4	4
14	A	3	3
	B	3	3
21	A	3	3
	B	3	3
35	A	3	3 <sup>↓</sup>
	B	3	3 <sup>↓</sup>
49	A	3	3 <sup>↓</sup>
	B	3	3 <sup>↓</sup>
70	A	3	3 <sup>↓</sup>
	B	3	3 <sup>↓</sup>
77	A	3	3 <sup>↓</sup>
	B	3	3 <sup>↓</sup>
84	A	3	3 <sup>↓</sup>
	B	3	3 <sup>↓</sup>

O mesmo estudo foi efectuado para o óleo girassol<sub>spray</sub>. A tabela seguinte (tabela V) representa a evolução do índice de peróxidos verificada no ensaio decorrido à temperatura de 42 °C.

**Tabela V** – Evolução do índice de peróxidos do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 42 °C.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
0	5,7343	0,9	<b>1,50</b>
21	5,3081	2,9	<b>5,30</b>
35	5,0915	3,2	<b>6,00</b>
42	5,5257	3,3	<b>5,70</b>
56	5,5740	2,8	<b>4,80</b>
63	6,6665	5,3	<b>7,60</b>

IP: Índice de Peróxidos

A evolução dos compostos primários e secundários da oxidação foi também avaliada por espectrofotometria no ultravioleta nos quatro comprimentos de onda definidos (tabela VI).

**Tabela VI** – Evolução dos compostos primários e secundários da oxidação do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	Coeficientes de extinção (K)			
			K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>
0	0,5663	25	<b>4,1</b>	<b>4,3</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
21	0,0640	25	<b>5,3</b>	<b>5,5</b>	<b>1,2</b>	<b>1,2</b>
35	0,0503	25	<b>5,1</b>	<b>5,3</b>	<b>1,2</b>	<b>1,2</b>
42	0,0489	25	<b>5,1</b>	<b>5,3</b>	<b>1,3</b>	<b>1,3</b>
56	0,0567	25	<b>4,6</b>	<b>4,8</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
63	0,0548	25	<b>4,8</b>	<b>5,0</b>	<b>1,5</b>	<b>1,5</b>

A tabela seguinte (tabela VII) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de cada uma das amostras.

**Tabela VII** – Evolução da acidez do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	Acidez (%)
0	20,0350	0,3	<b>0,04</b>
21	20,3741	0,3	<b>0,04</b>
35	20,4510	0,2	<b>0,03</b>
42	21,1125	0,4	<b>0,05</b>
56	21,1605	0,4	<b>0,05</b>
63	20,2393	0,4	<b>0,05</b>

O aroma e o sabor de algumas das amostras foram, também, avaliados e classificados (tabela VIII).

**Tabela VIII** – Evolução do aroma e do sabor do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Aroma	Sabor
0	4	3
35	4 <sup>↓</sup>	3 <sup>↓</sup>
42	4 <sup>↓</sup>	2
63	2	2

## ANEXO VI – Evolução oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 55 °C

Com o intuito de avaliar a evolução oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> ocorrida à temperatura de 55 °C, procedeu-se à determinação do índice de peróxidos, dos coeficientes de extinção e da acidez de diversas amostras, pertencentes ao mesmo lote.

O facto de, amostras pertencentes ao mesmo lote e sujeitas às mesmas condições experimentais, apresentarem resultados ligeiramente desiguais poderá estar relacionado com o erro associado aos diversos operadores de laboratório envolvidos nas determinações de cada um dos parâmetros estabelecidos. Relativamente aos coeficientes de extinção no U.V., a variabilidade nos resultados poderá estar relacionada com o erro associado ao aparelho de laboratório usado nesta determinação (espectrofotómetro).

A tabela seguinte (tabela I) representa a evolução do índice de peróxidos verificada no ensaio decorrido à temperatura de 55 °C, ao longo de 49 dias, para o óleo de girassol.

**Tabela I** – Evolução do índice de peróxidos do óleo de girassol à temperatura de 55 °C.

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	IP médio (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
0	Branco	5,0451	0,20	0,40	<b>0,40</b>
1	A	5,3500	1,1	2,00	<b>1,95</b>
	B	5,1293	1,0	1,89	
7	A	5,0157	2,3	4,40	<b>4,25</b>
	B	5,6607	2,4	4,10	
14	A	5,3046	3,1	5,60	<b>4,30</b>
	B	5,4125	1,7	3,00	
21	A	5,0343	1,7	3,20	<b>3,35</b>
	B	6,0070	2,2	3,50	

IP: Índice de Peróxidos

Pela análise da tabela anterior, é possível verificar que no 14º dia se atinge o máximo da reacção, com um índice de peróxidos médio de 4,30 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>.

Com o intuito de avaliar de forma mais abrangente a evolução dos compostos da oxidação, quer primários como secundários, efectuou-se a determinação dos coeficientes de extinção por espectrofotometria no ultravioleta a quatro comprimentos de onda distintos: 230, 232, 268 e 270 nm.

A tabela seguinte (tabela II) representa a evolução dos compostos primários e secundários da oxidação das amostras de óleo de girassol.



**Tabela II** – Evolução dos compostos primários e secundários da oxidação do óleo de girassol.

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	Coeficientes de extinção (K)				Coeficientes de extinção médios (K)			
				K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>	K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>
0	Branco	0,0593	25	3,2	3,0	1,1	1,1	3,2	3,0	1,1	1,1
1	A	0,0594	25	3,2	3,4	0,9	0,9	3,3	3,5	0,9	0,9
	B	0,0645	25	3,3	3,5	0,9	0,9				
7	A	0,0583	25	3,5	3,7	0,9	0,9	3,6	3,8	1,0	1,0
	B	0,0645	25	3,7	3,9	1,1	1,1				
14	A	0,0805	25	3,8	4,0	0,9	0,9	4,1	4,3	1,0	1,0
	B	0,0738	25	4,3	4,6	1,0	1,0				
21	A	0,0551	25	3,4	3,6	1,1	1,1	3,4	3,6	1,1	1,1
	B	0,0574	25	3,3	3,5	1,1	1,1				

A acidez do óleo de girassol foi também avaliada ao longo dos 21 dias. A tabela seguinte (tabela III) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de cada uma das amostras.

**Tabela III** – Evolução da acidez do óleo de girassol.

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	Acidez (%)	Acidez média (%)
0	Branco	20,8972	0,2	0,03	0,030
1	A	20,4826	0,2	0,03	0,035
	B	20,1348	0,2	0,04	
7	A	20,4410	0,2	0,03	0,030
	B	20,3455	0,2	0,03	
14	A	20,6827	0,2	0,03	0,030
	B	20,5359	0,2	0,03	
21	A	20,4591	0,3	0,04	0,040
	B	20,9022	0,3	0,04	

Ao longo dos 21 dias verificou-se que a acidez apresenta uma tendência crescente, embora essa tendência não se verifique de forma significativa no período de análise considerado. Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, algumas das amostras foram avaliadas e classificadas em termos de aroma e sabor (tabela IV).

**Tabela IV** – Evolução do aroma e do sabor do óleo de girassol.

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Aroma	Sabor
0	Branco	4	4
1	A	3	3 <sup>↓</sup>
	B	3	3 <sup>↓</sup>

21	A	3 <sup>↓</sup>	3 <sup>↓</sup>
	B	3 <sup>↓</sup>	3 <sup>↓</sup>

A tabela IV sugere que apenas um dia à temperatura de 55 °C é suficiente para surgirem os primeiros sinais de oxidação, essencialmente ao nível do sabor.

O mesmo estudo foi efectuado para o óleo girassol<sub>spray</sub>. A tabela seguinte (tabela V) representa a evolução do índice de peróxidos verificada no ensaio decorrido à temperatura de 55 °C, ao longo de 15 dias.

**Tabela V** – Evolução do índice de peróxidos do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 55 °C.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
0	5,7343	0,9	<b>1,50</b>
14	5,5599	2,9	<b>5,10</b>
21	5,4733	1,8	<b>3,20</b>
28	5,9794	2,5	<b>4,00</b>

Pela análise da tabela anterior, é possível verificar que no 14º dia se atinge o máximo da reacção, com um índice de peróxidos médio de 5,10 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>, superior ao valor máximo obtido no óleo de girassol (4,30 meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>).

Com o intuito de avaliar efectivamente o grau de oxidação dos óleos em estudo, recorreu-se a indicadores auxiliares. A tabela seguinte (tabela VI) representa a evolução dos compostos primários e secundários da oxidação das amostras de óleo girassol<sub>spray</sub>, com base na determinação dos coeficientes de extinção nos diferentes comprimentos de onda definidos.

**Tabela VI** – Evolução dos compostos primários e secundários da oxidação do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	Coeficientes de extinção (K)			
			K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>
0	0,5663	25	<b>4,1</b>	<b>4,3</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
14	0,0628	25	<b>5,1</b>	<b>5,3</b>	<b>1,2</b>	<b>1,2</b>
21	0,0521	25	<b>4,6</b>	<b>4,8</b>	<b>1,1</b>	<b>1,1</b>
28	0,0543	25	<b>4,9</b>	<b>5,1</b>	<b>1,2</b>	<b>1,2</b>

A acidez do óleo girassol<sub>spray</sub> foi também avaliada. A tabela seguinte (tabela VII) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de cada uma das amostras.

**Tabela VII** – Evolução da acidez do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	Acidez (%)
0	20,0350	0,3	<b>0,04</b>
14	20,5545	0,3	<b>0,04</b>
21	20,7783	0,3	<b>0,04</b>
28	21,1032	0,3	<b>0,04</b>

Ao longo dos 15 dias, verificou-se que a acidez se manteve constante, assumindo o mesmo valor da amostra analisada no mês de produção/embalamento deste óleo.

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, algumas das amostras foram avaliadas e classificadas em termos de aroma e sabor (tabela VIII).

**Tabela VIII** – Evolução do aroma e do sabor do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Aroma	Sabor
0	4	3
14	3	2
28	3	2 <sup>↓</sup>

Pela análise da tabela anterior, verifica-se que ao 14º dia o óleo já revela um sabor a ranço acentuado, apesar de no aroma ainda não surgirem sinais de oxidação.

## ANEXO VII – Evolução oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 50 °C

Com o intuito de avaliar a evolução oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> ocorrida à temperatura de 50 °C, procedeu-se à determinação do índice de peróxidos, dos coeficientes de extinção e da acidez de diversas amostras, pertencentes ao mesmo lote.

O facto de, amostras pertencentes ao mesmo lote e sujeitas às mesmas condições experimentais, apresentarem resultados ligeiramente desiguais poderá estar relacionado com o erro associado aos diversos operadores de laboratório envolvidos nas determinações de cada um dos parâmetros estabelecidos. Relativamente aos coeficientes de extinção no U.V., a variabilidade nos resultados poderá estar relacionada com o erro associado ao aparelho de laboratório usado nesta determinação (espectrofotómetro).

A tabela seguinte (tabela I) representa a evolução do índice de peróxidos verificada no ensaio decorrido à temperatura de 50 °C, ao longo de 63 dias, para o óleo de girassol.

**Tabela I** – Evolução do índice de peróxidos do óleo de girassol à temperatura de 50 °C.

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	IP médio (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
0	Branco	5,6539	0,4	0,7	<b>0,70</b>
1	A	6,8381	1,4	2,00	<b>2,00</b>
	B	-	-	-	
7	A	5,3509	1,8	3,20	<b>2,85</b>
	B	5,4527	1,4	2,50	
14	A	6,0271	1,7	2,70	<b>3,50</b>
	B	5,1482	2,3	4,30	
21	A	5,0577	1,7	3,20	<b>3,00</b>
	B	5,7787	1,7	2,80	
28	A	5,0850	1,9	3,00	<b>2,90</b>
	B	6,1596	2,2	2,80	
35	A	5,1532	2,1	3,20	<b>3,05</b>
	B	5,2827	1,9	2,90	
42	A	5,9101	1,9	2,60	<b>2,65</b>
	B	6,9559	2,4	2,70	
49	A	5,3412	2,2	3,60	<b>3,45</b>
	B	5,6769	2,1	3,30	
56	A	5,1373	2,6	4,47	<b>5,18</b>
	B	5,5613	3,7	5,88	
63	A	5,0037	3,4	6,00	<b>5,25</b>
	B	5,0770	2,6	4,50	

IP: Índice de Peróxidos

Com o intuito de avaliar de forma mais abrangente a evolução dos compostos da oxidação, quer primários como secundários, efectuou-se a determinação dos coeficientes de extinção por espectrofotometria no ultravioleta a quatro comprimentos de onda distintos: 230, 232, 268 e 270 nm. A tabela seguinte (tabela II) representa a evolução dos compostos primários e secundários da oxidação das amostras de óleo de girassol.

**Tabela II – Evolução dos compostos primários e secundários da oxidação do óleo de girassol.**

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	Coeficientes de extinção (K)				Coeficientes de extinção médios (K)			
				K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>	K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>
0	Branco	0,1253	25	3,0	3,2	0,8	0,8	3,0	3,2	0,8	0,8
1	A	0,0713	25	3,1	3,3	0,7	0,7	3,1	3,3	0,7	0,7
	B	-	-	-	-	-	-				
7	A	0,0563	25	3,1	3,3	0,8	0,8	3,2	3,4	0,9	0,9
	B	0,0493	25	3,3	3,5	0,9	0,9				
14	A	0,0516	25	3,1	3,3	0,8	0,8	3,4	3,6	0,9	0,9
	B	0,0571	25	3,6	3,8	1,0	1,0				
21	A	0,0488	25	3,4	3,5	0,9	0,9	3,3	3,4	0,9	0,9
	B	0,0633	25	3,1	3,3	0,8	0,8				
28	A	0,0499	25	3,3	3,5	0,8	0,8	3,3	3,5	0,8	0,8
	B	0,0508	25	3,3	3,4	0,8	0,8				
35	A	0,0512	25	3,1	3,3	0,8	0,8	3,2	3,4	0,8	0,8
	B	0,0507	25	3,2	3,4	0,8	0,8				
42	A	0,0495	25	3,3	3,4	0,8	0,8	3,2	3,4	0,8	0,8
	B	0,0564	25	3,1	3,3	0,8	0,8				
49	A	0,058	25	3,3	3,5	0,8	0,8	3,4	3,6	0,9	0,9
	B	0,0823	25	3,4	3,6	0,9	0,9				
56	A	0,0699	25	3,2	3,4	0,8	0,8	3,2	3,4	0,8	0,8
	B	0,0519	25	3,2	3,4	0,8	0,8				
63	A	0,0558	25	3,3	3,4	0,8	0,8	3,3	3,4	0,8	0,8
	B	0,0546	25	3,3	3,4	0,8	0,8				

A acidez do óleo de girassol foi também avaliada ao longo dos 63 dias. A tabela seguinte (tabela III) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de cada uma das amostras.

**Tabela III – Evolução da acidez do óleo de girassol.**

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Toma (g)	Volume (mL)	Acidez (%)	Acidez média (%)
0	Branco	21,0523	0,3	0,04	0,040
1	A	21,384	0,2	0,03	0,030
	B	-	-	-	
7	A	20,3196	0,3	0,04	0,035
	B	20,6824	0,2	0,03	
14	A	20,1081	0,2	0,03	0,030
	B	20,3725	0,2	0,03	

21	A	20,5516	0,3	0,04	<b>0,040</b>
	B	20,7770	0,3	0,04	
28	A	20,4946	0,3	0,04	<b>0,035</b>
	B	20,5999	0,2	0,03	
35	A	20,5397	0,3	0,04	<b>0,035</b>
	B	21,0301	0,2	0,03	
42	A	20,7505	0,2	0,03	<b>0,035</b>
	B	20,9011	0,3	0,04	
49	A	20,9845	0,2	0,03	<b>0,030</b>
	B	20,3947	0,2	0,03	
56	A	21,0212	0,3	0,04	<b>0,035</b>
	B	20,3591	0,2	0,03	
63	A	20,6396	0,3	0,04	<b>0,040</b>
	B	20,0115	0,3	0,04	

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, algumas das amostras foram avaliadas e classificadas em termos de aroma e sabor (tabela IV).

Tabela IV – Evolução do aroma e do sabor do óleo de girassol.

Tempo na estufa (dias)	Amostra	Aroma	Sabor
0	Branco	4	4
21	A	3	3
	B	3	3
28	A	3	3
	B	3	3
63	A	3	3
	B	3	3

O mesmo estudo foi efectuado para o óleo girassol<sub>spray</sub>. A tabela seguinte (tabela V) representa a evolução do índice de peróxidos verificada no ensaio decorrido à temperatura de 50 °C, ao longo de 42 dias.

Tabela V – Evolução do índice de peróxidos do óleo girassol<sub>spray</sub> à temperatura de 50 °C.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	IP (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )
0	5,7343	0,9	<b>1,50</b>
14	5,0321	3,5	<b>6,70</b>
28	5,0966	3,0	<b>4,70</b>
35	5,1234	3,2	<b>5,00</b>
42	5,6321	3,1	<b>4,40</b>
49	5,2656	3,3	<b>5,50</b>
63	5,0549	3,0	<b>5,20</b>

Com o intuito de avaliar efectivamente o grau de oxidação dos óleos em estudo, recorreu-se a indicadores auxiliares. A tabela seguinte (tabela VI) representa a evolução dos compostos primários e secundários da oxidação das amostras de óleo girassol<sub>spray</sub>, com base na determinação dos coeficientes de extinção nos diferentes comprimentos de onda definidos.

**Tabela VI** – Evolução dos compostos primários e secundários da oxidação do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	Coeficientes de extinção (K)			
			K <sub>232nm</sub>	K <sub>230nm</sub>	K <sub>268nm</sub>	K <sub>270nm</sub>
0	0,5663	25	4,1	4,3	1,0	1,0
14	0,0664	25	4,9	5,0	1,3	1,3
28	0,0564	25	4,6	4,7	1,1	1,1
35	0,0492	25	4,6	4,7	1,2	1,2
42	0,0521	25	4,5	4,6	1,0	1,0
49	0,0599	25	4,2	4,3	1,0	1,0
63	0,0515	25	4,6	4,7	1,1	1,1

A acidez do óleo girassol<sub>spray</sub> foi também avaliada. A tabela seguinte (tabela VII) representa a evolução da acidez, expressa em percentagem, de cada uma das amostras.

**Tabela VII** – Evolução da acidez do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Toma (g)	Volume (mL)	Acidez (%)
0	20,0350	0,3	0,040
14	20,2336	0,3	0,040
28	20,5662	0,3	0,040
35	20,7866	0,4	0,050
42	20,9488	0,3	0,040
49	22,1411	0,4	0,050
63	20,0399	0,4	0,060

Pretendendo-se avaliar as eventuais implicações que a evolução oxidativa apresentada poderá ter sobre a sua avaliação organoléptica, algumas das amostras foram avaliadas e classificadas em termos de aroma e sabor (tabela VIII).

**Tabela VIII** – Evolução do aroma e do sabor do óleo girassol<sub>spray</sub>.

Tempo na estufa (dias)	Aroma	Sabor
0	4	3
21	3	3
28	3	3
49	2	2
63	2	2

## ANEXO VIII – Estudo da estabilidade oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub> através do *Rancimat*

Com o intuito de avaliar a estabilidade oxidativa dos óleos de girassol e girassol<sub>spray</sub>, diversas amostras foram submetidas ao teste no *Rancimat*. O facto de, amostras pertencentes ao mesmo lote, à mesma garrafa (branco) e sujeitas às mesmas condições experimentais, apresentarem resultados ligeiramente desiguais poderá estar relacionado com o erro associado ao próprio aparelho, nomeadamente, eventuais oscilações nos fluxos de ar ou inadequada leitura da condutividade por parte do *Rancimat*.

A tabela seguinte (tabela I) apresenta os resultados do tempo de estabilidade, tempo de estabilidade médio e do logaritmo do tempo de estabilidade médio, relativos ao óleo de girassol.

**Tabela I** – Tempo de estabilidade do óleo de girassol, em horas, obtido a diversas temperaturas no *Rancimat*.

Temperatura (°C)	Branco	TE (h)	TE médio (h)	Log TE médio
120	A 1	2,57	2,52	0,401
	A 2	2,47		
110	A 1	4,65	4,19	0,622
	A 2	4,40		
	A 3	4,13		
	A 4	4,47		
	A 5	3,77		
	A 6	3,73		
100	A 1	9,42	8,23	0,915
	A 2	9,72		
	A 3	8,27		
	A 4	8,53		
	A 5	7,20		
	A 6	7,37		
	A 7	7,78		
	A 8	7,52		
90	A 1	20,80	17,63	1,246
	A 2	17,20		
	A 3	16,80		
	A 4	16,90		
	A 5	17,10		
	A 6	17,00		
80	A 1	42,90	40,28	1,605
	A 2	43,10		
	A 3	41,60		
	A 4	36,70		
	A 5	37,10		
70	A 1	88,80	90,65	1,957
	A 2	92,50		

A : Amostra; TE: Tempo de Estabilidade



Os resultados obtidos sugerem uma estabilidade oxidativa crescente à medida que a temperatura diminui. Verificou-se, também, que o acréscimo do tempo de estabilidade entre cada determinação aumenta significativamente à medida que a temperatura diminui.

O tempo de estabilidade, tempo de estabilidade médio e o logaritmo do tempo de estabilidade médio do óleo girassol<sub>spray</sub> obtidos nas mesmas condições experimentais encontram-se registados na tabela seguinte (tabela II).

**Tabela II** – Tempo de estabilidade do óleo girassol<sub>spray</sub>, em horas, obtido a diversas temperaturas no *Rancimat*.

Temperatura (°C)	Branco	TE (h)	TE médio (h)	Log TE médio
120	A 1	2,20	2,21	0,344
	A 2	2,22		
110	A 1	4,23	3,48	0,541
	A 2	4,35		
	A 3	3,37		
	A 4	3,60		
	A 5	2,63		
	A 6	2,67		
100	A 1	8,02	6,90	0,838
	A 2	8,83		
	A 3	8,48		
	A 4	7,33		
	A 5	5,73		
	A 6	5,40		
	A 7	5,72		
	A 8	5,70		
90	A 1	18,20	15,75	1,197
	A 2	17,10		
	A 3	14,60		
	A 4	14,40		
	A 5	15,00		
	A 6	14,60		
80	A 1	36,30	32,70	1,515
	A 2	36,70		
	A 3	34,20		
	A 4	28,20		
	A 5	28,10		
70	A 1	88,30	84,15	1,925
	A 2	80,00		

A : Amostra; TE: Tempo de Estabilidade